

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 22

№ 4. 2023

135

СИБГМУ



135 ЛЕТ СИБИРСКОМУ ГОСУДАРСТВЕННОМУ МЕДИЦИНСКОМУ УНИВЕРСИТЕТУ

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 22, № 4, 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 28.12.2023 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 26,5. Усл. печ. л. 26.
Тираж 500 экз. Заказ 873.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 29.12.2023.

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)*
А. Antsaklis, *профессор (Греция)*
F. Chervenak, *профессор (США)*
С. Dadak, *профессор (Австрия)*
Y. Dekhtyar, *профессор (Латвия)*
M. Erpple, *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. 4, 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 Litbuo LLC,
4, Koroleva Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

Signed to print on 28.12.2023
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 26,5. C.p.s. 26.
500 copies. Order No. 873.

The price – free.
Date of publication 29.12.2023.

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
<p><i>Аутенишлюс А.И., Архипов С.А., Михайлова Е.С., Архипова В.В., Проскура А.В., Вараксин Н.А., Ляхович В.В.</i> Маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, пролиферации и продукция цитокинов в ткани молочной железы при злокачественных и незлокачественных заболеваниях молочной железы</p>	<p><i>Autenshlyus A.I., Arkhipov S.A., Mikhaylova E.S., Arkhipova V.V., Proskura A.V., Varaksin N.A., Lyahovich V.V.</i> Epithelial – mesenchymal transition markers, proliferation markers, and cytokine secretion in breast tissue in malignant and benign breast diseases</p>
<p><i>Бразовский К.С., Винокурова Д.А., Стреж В.А., Усов В.Ю.</i> Способ оценки функционального состояния головного мозга при острых внутрибольничных нарушениях мозгового кровообращения</p>	<p><i>Brazovskii K.S., Vinokurova D.A., Strezh V.A., Ussov V.Yu.</i> A method to evaluate the functional state of the human brain after acute in-hospital stroke</p>
<p><i>Волошин Н.И., Пугач В.А., Салухов В.В., Тюнин М.А., Минаков А.А., Ильинский Н.С., Левчук Е.В.</i> Экспериментальное исследование эффективности дексаметазона на модели липополисахарид-индуцированного острого повреждения легких у крыс</p>	<p><i>Voloshin N.I., Pugach V.A., Salukhov V.V., Tyunin M.A., Minakov A.A., Ilyinskiy N.S., Levchuk E.V.</i> The experimental study of dexamethasone effectiveness in a model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats</p>
<p><i>Дмитриева М.Л., Петров И.А., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Дума О.М., Косимова З.О., Чернышова М.А., Юрьев С.Ю., Тимофеева О.С., Жданкина А.А., Герасимов А.В.</i> Прогнозирование «бедного ответа» в программах вспомогательных репродуктивных технологий после оперативных вмешательств на яичниках</p>	<p><i>Dmitrieva M.L., Petrov I.A., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Duma O.M., Kosimova Z.O., Chernyshova M.A., Yuriev S.Y., Timofeeva O.S., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V.</i> Prediction of a poor ovarian response in assisted reproductive technology programs in patients after surgical interventions on the ovaries</p>
<p><i>Зыкова М.В., Иванов В.В., Ларионов К.С., Азаркина Л.А., Буйко Е.Е., Братишко К.А., Уфандеев А.А., Рабцевич Е.С., Михалев Д.А., Копнов И.С., Перминова И.В., Белоусов М.В.</i> Исследование ранозаживляющих свойств комплексов цинка с гуминовыми веществами в эксперименте <i>in vivo</i> на модели асептической раны</p>	<p><i>Zykova M.V., Ivanov V.V., Larionov K.S., Azarkina L.A., Buyko E.E., Bratishko K.A., Ufandeev A.A., Rabtsevich E.S., Mikhalev D.A., Kopnov I.S., Perminova I.V., Belousov M.V.</i> Study of wound-healing properties of humic substance – zinc complexes in the aseptic wound model <i>in vivo</i></p>
<p><i>Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Щербаклова Л.В., Шрамко В.С., Стахнёва Е.М., Худякова А.Д., Садовский Е.В., Денисова Д.В., Рагино Ю.И.</i> Распространенность некоторых терапевтических заболеваний в зависимости от уровней адипокинов у людей до 45 лет</p>	<p><i>Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Shcherbakova L.V., Shramko V.S., Stakhneva E.M., Khudyakova A.D., Sadovski E.V., Denisova D.V., Ragino Yu.I.</i> Prevalence of some internal diseases depending on the adipokine level in people under 45 years of age</p>
<p><i>Наумов С.С., Крахмаль Н.В., Тарасов М.Н., Тараненко М.И., Удут Е.В., Колобовникова Ю.В., Вторушин С.В.</i> Клинико-патологические особенности рака толстой кишки в зависимости от dMMR статуса опухоли</p>	<p><i>Naumov S.S., Krakhmal N.V., Tarasov M.N., Taranenko M.I., Udut E.V., Kolobovnikova Yu.V., Vtorushin S.V.</i> Clinicopathological features of colon cancer depending on the dMMR status of the tumor</p>

<i>Плотников Е.В., Третьякова М.С., Кривошеков С.В., Колобовникова Ю.В., Белосов М.В.</i> Иммуномодулирующее действие литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты <i>in vitro</i>	65	<i>Plotnikov E.V., Tretyakova M.S., Krivoshekov S.V., Kolobovnikova Y.V., Belousov M.V.</i> Immunomodulatory effect of lithium salt gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid <i>in vitro</i>
<i>Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Стахнёва Е.М., Ледовских С.Р., Гарбузова Е.В., Шрамко В.С., Кургузов А.В., Мурашов И.С., Садовский Е.В., Рагино Ю.И.</i> Уровни металлопротеиназ и гормонов жировой ткани у мужчин с коронарным атеросклерозом	73	<i>Polonskaya Ya.V., Kashtanova E.V., Stakhneva E.M., Ledovskikh S.R., Garbuzova E.V., Shramko V.S., Kurguzov A. V., Murashov I. S., Sadovsky E.V., Ragino Yu.I.</i> Levels of metalloproteinases and adipose tissue hormones in men with coronary atherosclerosis
<i>Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Солонский А.В., Логвинов С.В., Герасимов А.В., Светлик М.В., Жданкина А.А., Геренг Е.А., Петров И.А.</i> Влияние продолжительного постоянного освещения на глию сетчатки	79	<i>Potapov A.V., Varakuta E.Yu., Solonksy A.V., Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Svetlik M.V., Zhdankina A.A., Gereng E.A., Petrov I.A.</i> Effect of long-term constant irradiation on retinal glia
<i>Самгина Т.А.</i> Изучение роли полиморфизмов гена <i>GCLC</i> в прогнозировании клинического течения острого алкогольно-алиментарного панкреатита	86	<i>Samgina T.A.</i> Studying the role of <i>GCLC</i> gene polymorphisms in predicting the clinical course of acute alcoholic pancreatitis
<i>Санина А.Е., Серебрякова В.А., Уразова О.И., Гаджиев А.А.</i> Сигнальный путь Notch в развитии дисбаланса иммунных реакций у больных диссеминированным туберкулезом легких	92	<i>Sanina A.E., Serebryakova V.A., Urazova O.I., Gadzhiev A.A.</i> Notch signaling pathway in the development of imbalanced immune responses in patients with disseminated pulmonary tuberculosis
<i>Сарпова М.В., Трегубова Е.В., Дьяконов Д.А., Ванеева Е.В., Росин В.А., Самарина С.В., Назарова Е.Л.</i> Взаимосвязь делеций генов <i>CDKN2A</i> и <i>CDKN2B</i> с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой	100	<i>Sarpova M.V., Tregubova E.V., Diakonov D.A., Vaneeva E.V., Rosin V.A., Samarina S.V., Nazarova E.L.</i> Association of <i>CDKN2A/B</i> deletions with survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma
<i>Тимофеева О.С., Петров И.А., Гайфулина Ж.Ф., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Самойлова Ю.Г., Петрова М.С., Юрьев С.Ю., Дмитриева М.Л., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Михеенко Г.А.</i> Анализ программ экстракорпорального оплодотворения при ановуляторном бесплодии у пациенток с ретенционными образованиями яичников	107	<i>Timofeeva O.S., Petrov I.A., Gaifulina J.F., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Samoilova Iu.G., Petrova M.S., Yuriev S.Yu., Dmitrieva M.L., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V., Mikheenko G.A.</i> Analysis of <i>in vitro</i> fertilization programs in patients with functional ovarian cysts and anovulatory infertility
<i>Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Галочкин С.А., Кобалава Ж.Д.</i> Статус гидратации у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией острой сердечной недостаточности в зависимости от степени нарушения углеводного обмена	114	<i>Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Galochkin S.A., Kobalava Zh.D.</i> Hydration status in patients hospitalized with acute decompensated heart failure depending on the severity of glucose metabolism disorder
<i>Толмачев И.В., Анисин А.В., Бала А.М., Вразнов Д.А., Шаповалов А.В., Котловский М.Ю., Лаптев В.В., Бразовский К.С.</i> Математическое моделирование физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей	122	<i>Tolmachev I.V., Anisin A.V., Bala A.M., Vrazhnov D.A., Shapovalov A.V., Kotlovskiy M.Yu., Laptev V.V., Brazovskiy K.S.</i> Mathematical modeling of physiological parameters in traumatic shock caused by lower limb blast injury

<i>Трубачева О.А., Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Петрова И.В., Васильев В.Н., Ковалев И.В., Якимович И.Ю.</i>		<i>Trubacheva O.A., Kologrivova I.V., Schnaider O.L., Petrova I.V., Vasiliev V.N., Kovalev I.V., Yakimovich I.Yu.</i>	
Провоспалительные биомаркеры и агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца	130	Proinflammatory biomarkers and platelet aggregation activity in patients with coronary artery disease	130
<i>Фролов А.А., Фролов И.А., Уланова Н.Д., Починка И.Г., Кузьмичев К.В., Мухин А.С., Шарабрин Е.Г.</i>		<i>Frolov A.A., Frolov I.A., Ulanova N.D., Pochinka I.G., Kuzmichev K.V., Mukhin A.S., Sharabrin E.G.</i>	
Фенотипы синдрома коронарной микрососудистой обструкции (no-reflow), развивающегося в ходе выполнения чрескожных коронарных вмешательств при инфаркте миокарда	137	Phenotypes of the no-reflow phenomenon during percutaneous coronary interventions in myocardial infarction	137
<i>Чигрина В.П., Тюфиллин Д.С., Деев И.А., Кобякова О.С.</i>		<i>Chigrina V.P., Tyufilin D.S., Deev I.A., Kobyakova O.S.</i>	
Прием антибактериальных препаратов без назначения врача в Российской Федерации	147	Taking antibacterial drugs without a doctor's prescription in the Russian Federation	147
<i>Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Гладковская М.В., Андреев С.Л., Невская К.В., Зима А.П., Никулина Е.Л.</i>		<i>Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Gladkovskaya M.V., Nevskaya K.V., Andreev S.L., Zima A.P., Nikulina E.L.</i>	
Влияние М-CSF на экспрессию маркеров прогениторных эндотелиальных клеток в культуре мононуклеаров крови при ишемической болезни сердца	156	Effect of M-CSF on the expression of endothelial progenitor cell markers in blood mononuclear cell culture in coronary heart disease	156
ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ		REVIEWS AND LECTURES	
<i>Беспалова И.Д., Митриченко У.М., Калюжнин В.В., Королева Е.С., Кошачвцева Ю.И., Романов Д.С., Першина Д.Е.</i>		<i>Bespalova I.D., Mitrichenko U.M., Kalyuzhin V.V., Koroleva E.S., Koshchavtseva Yu.I., Romanov D.S., Pershina D.E.</i>	
Дисбаланс адипокинов и его роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции	164	Adipokine imbalance and its role in the pathogenesis of novel coronavirus infection	164
<i>Саприна Т.В., Баширова А.С., Иванов В.В., Пеков С.И., Попов И.А., Баширов С.Р., Васильева Е.А., Павленко О.А., Криницкий Д.В., Чэнь М.</i>		<i>Saprina T.V., Bashirova A.S., Ivanov V.V., Pekov S.I., Popov I.A., Bashirov S.R., Vasilyeva E.A., Pavlenko O.A., Krinitskii D.V., Chen M.</i>	
Липидомные маркеры ожирения и их динамика после бариатрических операций	174	Lipidomic markers of obesity and their dynamics after bariatric surgery	174
<i>Семакин А.В., Федосенко С.В., Малиновский В.А., Агаева С.А., Старовойтова Е.А., Калюжнин В.В.</i>		<i>Semakin A.V., Fedosenko S.V., Malinovskiy V.A., Agaeva S.A., Starovoytova E.A., Kalyuzhin V.V.</i>	
Качество жизни и психические расстройства в постковидном периоде (систематический обзор)	188	Quality of life and mental disorders in the post-COVID period (systematic review)	188
<i>Чернов Д.Ю., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Петров И.А., Юрьев С.Ю., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Зингалюк И.В., Михеенко Г.А.</i>		<i>Chernov D.Y., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Petrov I.A., Yuriev S.Y., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V., Zingalyuk I.V., Mikheenko G.A.</i>	
Проблемы диагностики патологий шейки матки	201	Challenges in the diagnosis of cervical pathologies	201
Именной указатель 22-го тома	210	Author index for volume 22	210

Маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, пролиферации и продукция цитокинов в ткани молочной железы при злокачественных и незлокачественных заболеваниях молочной железы

Аутеншлюс А.И.^{1,2}, Архипов С.А.^{1,2}, Михайлова Е.С.^{1,2}, Архипова В.В.¹, Проскура А.В.², Вараксин Н.А.³, Ляхович В.В.²

¹ Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

² Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики (НИИМББ),
Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ)
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ АО «Вектор-Бест»
Россия, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово

РЕЗЮМЕ

Цель. На основе изучения экспрессии маркеров пролиферации, эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и цитокинового профиля суперглантов образцов ткани молочной железы (МЖ) при раке МЖ и незлокачественных заболеваниях (НЗМЖ) разработать методологические основы оценки вероятности малигнизации МЖ при НЗМЖ.

Материалы и методы. В образцах МЖ больных с инвазивной карциномой неспецифического типа (ИКНТ) и пациентов с НЗМЖ иммуногистохимическим методом определяли экспрессию Е-кадгерина (CDH1), интегрина $\beta 1$ (CD29), коллагена II типа (СII) и маркера пролиферации Ki-67. С помощью иммуноферментного анализа в супернатанте культивируемых образцов МЖ определяли концентрацию интерлейкина (IL) 2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, фактора некроза опухоли-альфа (TNF α), гамма-интерферона (IFN γ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) и моноцитарного хемотаксического белка 1 (MCP-1).

Результаты. Показано, что ИКНТ и ДЗМЖ отличаются по экспрессии Е-кадгерина, CD29, Ki-67 и продукции IL-2, IL-4, IL-6, IL-17, IL-18, IL-1Ra, TNF α , IFN γ , MCP-1. При помощи ROC-анализа установлено, что модели, характеризующие различия между образцами ИКНТ и ДЗМЖ, формируются по параметрам экспрессии CD29, Ki-67 и продукции IL-17, IL-18, TNF α , VEGF-A и MCP-1. При помощи нейросетевого анализа выявлено, что наибольшую «нормализованную важность» для оценки различий образцов ИКНТ и ДЗМЖ имеют параметры CD29, IL-1Ra, TNF α и VEGF-A. При кластеризации объединенной базы данных пациентов с ДЗМЖ и ИКНТ по экспрессии Е-кадгерина, CD29, Ki-67 и по показателям продукции IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A формируется кластер, в который входят показатели 94,1% пациентов с ДЗМЖ. Параметры менее 10% пациентов с ДЗМЖ, попавших в другие кластеры, практически совпадали с исследованными параметрами ИКНТ. Это дает основание предположить, что эти пациенты могут составить группу риска с вероятностной малигнизацией более 90%.

Заключение. Полученные данные позволили сформировать методологическую основу для оценки вероятности малигнизации МЖ у пациентов с ДЗМЖ.

Ключевые слова: незлокачественные заболевания молочной железы, инвазивная карцинома неспецифического типа, маркер пролиферации, маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, цитокины

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

Источник финансирования. Исследование профинансировано в рамках государственного задания (№ АААА-А18-118030790008-7) Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом Института молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (протокол № 2016-3 от 15.03.2016).

Для цитирования: Аутеншлюс А.И., Архипов С.А., Михайлова Е.С., Архипова В.В., Проскура А.В., Вараксин Н.А., Ляхович В.В. Маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, пролиферации и продукция цитокинов в ткани молочной железы при злокачественных и незлокачественных заболеваниях молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-6-14>.

Epithelial – mesenchymal transition markers, proliferation markers, and cytokine secretion in breast tissue in malignant and benign breast diseases

Autenshlyus A.I.^{1,2}, Arkhipov S.A.^{1,2}, Mikhaylova E.S.^{1,2}, Arkhipova V.V.¹, Proskura A.V.², Varaksin N.A.³, Lyahovich V.V.²

¹ *Novosibirsk State Medical University
52, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation*

² *Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
2, Timakova Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation*

³ *Vector-Best JSC
Koltsovo, Novosibirsk, 630559, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To develop methodological grounds for assessing the probability of breast malignancy in patients with non-cancerous breast diseases (NCBD) by the following parameters: expression of markers of epithelial – mesenchymal transition (EMT) and proliferation and production of cytokines by samples of the breast tissue.

Materials and methods. In breast samples (BS) of patients with invasive carcinoma of no special type (ICNT) and patients with NCBD, immunohistochemistry was used to determine the expression of E-cadherin (CDH1), integrin β 1 (CD29), type II collagen (CII), and proliferation of Ki-67. Using the enzyme-linked immunosorbent assay, concentrations of interleukin (IL)-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, tumor necrosis factor (TNF) α , interferon (IFN) γ , granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), granulocyte – macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, and monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 were determined in the supernatant of the cultured breast tissue samples.

Results. It was shown that ICNT and NCBD differ in the expression of E-cadherin, CD29, Ki-67, and the production of IL-2, IL-4, IL-6, IL-17, IL-18, IL-1Ra, TNF α , IFN γ , and MCP-1.

The ROC analysis found that the models characterizing the differences between the ICNT and NCBD samples were formed by the parameters of CD29 and Ki-67 expression and IL-17, IL-18, TNF α , VEGF-A, and MCP-1 production. The neural network analysis revealed that CD29, IL-1Ra, TNF α , and VEGF-A had the greatest normalized importance for assessing the differences between the ICNT and NCBD samples. Clustering of the combined database of patients with NCBD and ICNT by the expression of E-cadherin, CD29, Ki-67 and by the production of IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1, and VEGF-A resulted in a cluster which includes the parameters of

94.1% of patients with NCBD. The parameters of less than 10% of patients with NCBD who fell into other clusters practically coincided with the studied parameters of the ICNT group, which suggests that these patients may form a risk group with the malignancy probability of more than 90%.

Conclusion. The data obtained made it possible to develop methodological grounds for assessing the likelihood of breast malignancy in patients with NCBD.

Keywords: non-cancerous breast diseases, invasive carcinoma of no special type, proliferation marker, markers of epithelial – mesenchymal transition, cytokines

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

Source of financing. The study was funded within the state assignment (No. ААААА-А18-118030790008-7) of the Ministry of Health of the Russian Federation.

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 Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Protocol No. 2016-3 of 15.03.2016).

For citation: Autenshlyus A.I., Arkhipov S.A., Mikhaylova E.S., Arkhipova V.V., Proskura A.V., Varaksin N.A., Lyahovich V.V. Epithelial – mesenchymal transition markers, proliferation markers, and cytokine secretion in breast tissue in malignant and benign breast diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-6-14>.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что патогенетическим фоном для развития рака могут быть незлокачественные заболевания молочной железы (НЗМЖ) [1, 2]. Согласно классификации Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer), в группу предраковых поражений молочной железы (МЖ) включена протоковая карцинома *in situ* [3]. Тем не менее, по данным литературы, к предраковым состояниям относят склерозирующий аденоз [4, 5], радиальный рубец [6] и внутрипротоковые пролифераты, повышающие риск развития рака МЖ с 1,27 до 10,35 раз в зависимости от формы их патологии [7–10]. Эти данные обуславливают актуальность исследований, направленных на поиск новых маркеров, позволяющих выявлять предраковые изменения в ткани МЖ, которые могут отражать механизмы малигнизации ткани МЖ при НЗМЖ.

Одним из процессов, характеризующих начало злокачественной трансформации, является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) [11, 12]. Известно, что ЭМП характеризуется активацией экспрессии мезенхимальных маркеров, таких как интегрин бета-1 (CD29) и коллагена II типа (СII), а также снижением уровня экспрессии эпителиального маркера Е-кадгерина (CDH1) [13–17]. Наиболее широко используемым маркером пролиферации клеток при раке МЖ является Ki-67 благодаря надежной корреляции с пролиферативной активностью раковых клеток [18].

Выявление ЭМП в тканях МЖ можно рассматривать как первый признак развития клеточной атипии, а экспрессию ряда молекул, ассоциированных с комплексом ЭМП, как «маркер», свидетельствующий о начале процесса малигнизации при НЗМЖ, индукторами которого является ряд медиаторов воспаления, включая цитокины [12, 13]. В свою очередь, продукция цитокинов, стимулирующая ЭМП, может быть вызвана активацией некоторых сигнальных путей в клетках. Так, индукция ЭМП под влиянием интерлейкина (IL) 1 β , как и фактора некроза опухоли-альфа (TNF α), обусловлена активацией сигнального пути NF-kB [14]. Эти данные указывают на то, что малигнизация ткани МЖ может зависеть не только от процесса ЭМП, но и от конкретных изменений в цитокиновом профиле опухоли, определяющих микроокружение опухоли, в которое входят различные иммунокомпетентные клетки, фибробласты, фиброциты, эпителиоциты и другие клетки, которые продуцируют различные цитокины. Некоторые из цитокинов, являющиеся продуктом клеток микроокружения опухоли, активно поддерживают прогрессирование рака МЖ [19, 20]. Однако роль цитокинов в процессе формирования клеточной атипии и малигнизации ткани МЖ еще недостаточно изучена, чтобы рассматривать их как маркеры, указывающие на высокий риск малигнизации.

Цель исследования: на основе изучения экспрессии маркеров пролиферации, эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и цитокинового профиля супернатантов образцов ткани молочной железы

(МЖ) при раке МЖ и незлокачественных заболеваниях (НЗМЖ) разработать методологические основы оценки вероятности малигнизации МЖ при НЗМЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили образцы опухолей МЖ 79 женщин, находившихся на лечении в онкологическом отделении № 1 Новосибирской городской больницы № 1. Из них 62 человека с гистологическим типом рака МЖ – инвазивная карцинома неспецифического типа (ИКНТ) II степени, 17 человек – с доброкачественными заболеваниями МЖ (ДЗМЖ), из них: с фибroadеномой – 8, с фибрознокистозной болезнью, в том числе с фибroadеноматозом, – 6, с протоковой гиперплазией с участками склерозирующего аденоза – 2, с очаговым фиброзом с микрокальцинатами – 1. Средний возраст пациентов с ИКНТ $53,9 \pm 1,8$ (23 года – 76 лет), с ДЗМЖ – $45,4 \pm 5,1$ (19–67 лет). Критериями исключения из исследования были признаки метастазирования в отдаленные органы и наличие сопутствующих гормональных, хронических, воспалительных и инфекционных заболеваний.

Исследование и все протоколы исследования одобрены этическим комитетом Института молекулярной биологии и биофизики (протокол № 2016-3) Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск, Россия). Все процедуры, выполненные в этом исследовании, проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. и ее последующими поправками (Brazil, Fortaleza, 2013). Каждый пациент был проинформирован о проведенном исследовании, его целях и методах. Письменное информированное согласие на участие в исследовании и на использование образцов опухоли подписывалось каждым пациентом и заверялось лечащим врачом.

Образцы опухоли (8 мм³), полученные с помощью трепанобиопсии, промывали культуральной средой DMEM-F12 трижды, затем помещали в стеклянный флакон с 1 мл среды DMEM-F12 и инкубировали в течение 72 ч при 37 °C [15]. После инкубации исследуемые образцы извлекали из среды и фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина для дальнейших иммуногистохимических и гистопатологических исследований. В супернатанте образца МЖ с помощью иммуноферментного анализа определяли концентрации IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , гамма-интерферона (IFN γ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) и моноцитарный

хемотаксический белок 1 (MCP-1), используя наборы реагентов «АО Вектор-Бест» (Россия).

Фиксированные в нейтральном формалине образцы ткани обезвоживали и заливали в парафин. Депарафинизацию и регидратацию парафиновых срезов проводили по стандартному протоколу – ксилол/этанол.

Уровни экспрессии Ki-67, E-кадгерина (DH1), CD29 и CII в образцах ИКНТ и ткани НЗМЖ определяли с использованием моноклональных антител: анти-Ki-67 (Leica Biosystems, Inc.), анти-E-кадгерин (BD Biosciences, США), анти-CD29 (BD Transduction Laboratories, США), анти-CII (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) и системы визуализации VECTASTAIN ABC Kit (Vector Laboratories, PK-7200, США) в соответствии с рекомендациями производителей. Срезы дополнительно окрашивали гематоксилином и эозином, заключали в бальзам. Анализ экспрессии исследуемых маркеров проводили с помощью морфометрического комплекса на базе микроскопа MICROMED-6, цифровой камеры DSM 510 и программного обеспечения ImageJ 1.42g (NIH, США). Для каждого пациента оценивали по 10 микрофотографий (полученных при $\times 40$). Данные экспрессии Ki-67, DH1, CD29 и CII представлены в процентах (% клеток, экспрессирующих маркер).

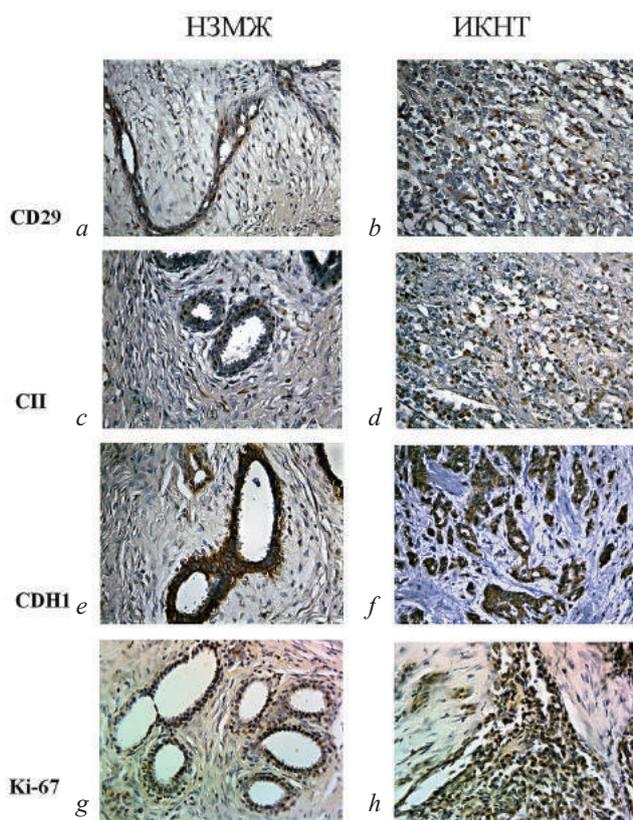
Уровень статистической значимости различий между группами определялся с помощью непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Показатели выражали в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Вычисления проводились с использованием программного обеспечения Statistica v. 7.

Нейросетевой анализ и ROC-анализ полученных данных проводились с использованием программного обеспечения IBM SPSS, v. 22. Оценку «нормализованной важности» различных характеристик образцов опухоли для выявления различий между образцами ИКНТ и ДЗМЖ осуществляли при помощи нейросетевого анализа всей базы данных, включающих параметры ИКНТ и ткани МЖ при ДЗМЖ. В исследовании была использована нейросетевая модель, сгенерированная на основе модуля «Много-слойный перцептрон», одним скрытым слоем и тремя нейронами. Функция активации скрытого слоя – «гиперболический тангенс», функция активации выходного слоя – «тождество». Для проверки точности анализа нейросетевой модели нормализованную важность всех параметров модели определяли при использовании двух методов обучения: пакетного (алгоритм оптимизации метод градиентного спуска) и интерактивного (алгоритм оптимизации метод градиентного спуска). Кластерный анализ прово-

дили с использованием программного обеспечения Statistica v. 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлена оценка различий между образцами ткани МЖ при ИКНТ и незлокачественных заболеваниях МЖ по экспрессии маркеров пролиферации, ЭМП и концентрации цитокинов в супернатанте. На рис. 1 приведены образцы ИКНТ и ткани МЖ от пациентов с НЗМЖ, иммуногистохимически окрашенные на Ki-67, E-кадгерин, СП и CD29.



Показатели экспрессии Ki-67 были выше в группе образцов ИКНТ по сравнению с таковыми в группе образцов при ДЗМЖ в 2,7 раза. Показано, что образцы ИКНТ и образцы ДЗМЖ достоверно отличаются по экспрессии E-кадгерина и CD29: показатели экспрессии E-кадгерина были выше в образцах ткани МЖ при ДЗМЖ по сравнению с образцами ИКНТ, а показатели экспрессии CD29 были выше в образцах ткани при ИКНТ по сравнению с образцами при ДЗМЖ. По экспрессии СП между указанными группами различий не выявлено.

Рис. 1. Результаты иммуногистохимического анализа опухолевой ткани: НЗМЖ – доброкачественные заболевания молочной железы (a, c, e и g – фибroadенома); ИКНТ – инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа (b, d, f и h). Коричнево-желтая окраска указывает на экспрессию маркеров ЭМП (CDH1 – E-кадгерин; CD29 – интегрин β 1; СП – коллаген II типа) и маркера пролиферации Ki-67. Дополнительное окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 400$

Установлено, что образцы ИКНТ и ДЗМЖ достоверно отличаются по продукции цитокинов IL-2, IL-6, IL-17, IL-18, IL-1Ra, TNF α , IFN γ , VEGF-A и MCP-1. Концентрация цитокинов IL-6 и MCP-1 в супернатанте ткани была выше при ДЗМЖ по сравнению с образцами ИКНТ, а концентрация цитокинов IL-2, IL-17, IL-18, IL-1Ra, TNF α , IFN γ и VEGF-A была выше в образцах ИКНТ по сравнению с образцами при ДЗМЖ.

В таблице 2 представлены результаты ROC-анализа и нейросетевого исследования по выявлению различий между образцами ткани МЖ при ИКНТ и НЗМЖ по экспрессии маркеров пролиферации, ЭМП и концентрации цитокинов в супернатанте образцов опухоли. При помощи ROC-анализа,

показывающего качество моделей, установлено, что наиболее качественные модели, характеризующие различия образцов ИКНТ и ДЗМЖ, формируются при использовании в качестве параметров сравнения следующие показатели: экспрессию CD29 и Ki-67, продукцию образцами опухоли IL-17, IL-18, TNF α , VEGF-A и MCP-1. По данным ROC-анализа, качество моделей для выявления различий между опухолями при ИКНТ и ткани МЖ ДЗМЖ, основанное на этих показателях, было хорошим (AUC > 0,7) или очень хорошим (AUC > 0,8). Величины AUC для CD29 и Ki-67, IL-17, IL-18, TNF α , VEGF-A и MCP-1 составили 0,750; 0,863; 0,732; 0,784; 0,722; 0,873 и 0,742 соответственно (табл. 2).

Согласно данным, полученным при помощи нейросетевого анализа, самые высокие показатели нормализованной важности (более 80%) в нейросетевой модели для выявления различий между ИКНТ и ДЗМЖ были обнаружены для экспрессии CD29 (100%), продукции IL-1Ra (>90%), TNF α (>90%) и VEGF-A (>80%). Достаточно высокие показатели нормализованной важности (более

70%) в использованной нейросетевой модели для выявления различий между образцами опухолей при ИКНТ и ДЗМЖ были выявлены для E-кадгерина и Ki-TNF α 67 (табл. 2). Как видно из табл. 2, метод обучения нейросетевой модели (пакетный или интерактивный) не оказывал существенного влияния на результаты анализа всех переменных.

Таблица 1

Экспрессия маркеров, ассоциированных с ЭМП, Ki-67, и концентрация цитокинов в супернатанте образцов ИКНТ и ДЗМЖ, Me (Q_{25} ; Q_{75})			
Параметр	Образцы тканей МЖ		p
	ИКНТ	ДЗМЖ	
E-кадгерин	64,2 (60,9; 91,7)	82,7 (79,7; 97,6)	0,020
CD29	19,6 (8,4; 19,7)	8,9 (1,3; 15,3)	0,001
СП	12,1 (6,5; 15,7)	10,5 (5,3; 14,9)	0,542
Ki-67	21,0 (12,0; 43,0)	8,3 (3,2; 19,8)	0,001
IL-2	2,8 (2,1; 5,4)	2,2 (2,1; 2,5)	0,005
IL-4	2,7 (1,7; 4,1)	3,2 (2,6; 4,4)	0,286
IL-6	297,8 (87,2; 482,7)	502,4 (279,6; 654,5)	0,027
IL-8	366,6 (203,1; 672,8)	378,7 (295,5; 1360,0)	0,467
IL-10	6,1 (1,3; 11,8)	9,5 (1,7; 19,5)	0,404
IL-17	2,3 (1,0; 5,1)	6,0 (2,2; 7,4)	0,003
IL-18	42,4 (15,2; 180,6)	5,0 (3,3; 26,5)	0,001
IL-1 β	32,3 (14,7; 70,2)	17,0 (11,2; 38,8)	0,148
IL-1Ra	3273,5 (2172,6; 4195,0)	2070,6 (689,6; 3003,2)	0,034
TNF α	2,9 (1,5; 5,2)	2,0 (1,1; 3,2)	0,046
IFN γ	11,5 (5,2; 26,0)	5,9 (2,0; 17,4)	0,027
G-CSF	61,1 (8,7; 424,6)	80,3 (41,1; 468,1)	0,745
GM-CSF	8,6 (3,1; 22,2)	3,2 (2,0; 13,4)	0,099
VEGF-A	1359,2 (161,0; 2144,0)	55,8 (18,4; 377,2)	0,001
MCP-1	560,9 (196,9; 1556,0)	660,8 (259,6; 1133,2)	0,046

Примечание. Величина экспрессии E-кадгерина, CD29 и СП представлена в процентах (% экспрессирующих клеток); значения цитокинов – в пкг/мл.

Таблица 2

Оценка различий между образцами ткани МЖ при ИКНТ и ДЗМЖ по экспрессии маркеров ЭМП, пролиферации и концентрации цитокинов в супернатанте при помощи ROC-анализа и нейросетевого метода исследования			
Параметр	Нормализованная важность параметра в НС-модели; метод обучения – пакетный, %	Нормализованная важность параметра в НС-модели; метод обучения – интерактивный, %	Площадь под кривой (AUC) в ROC-анализе
E-кадгерин	79,4	78,6	0,549
CD29	100,0	100,0	0,750
СП	36,3	38,0	0,162
Ki-67	78,0	77,7	0,863
IL-2	53,9	53,5	0,642
IL-4	22,5	34,4	0,415
IL-6	47,5	49,7	0,280
IL-8	45,5	50,4	0,441
IL-10	33,6	40,4	0,433
IL-17	68,3	68,5	0,732
IL-18	34,3	23,1	0,784
IL-1 β	53,8	40,6	0,616
IL-1Ra	90,7	95,7	0,668
TNF α	91,3	95,2	0,722
IFN γ	12,3	12,0	0,676
G-CSF	9,7	9,7	0,473
GM-CSF	76,7	71,7	0,459
VEGF-A	81,6	82,8	0,873
MCP-1	72,1	69,0	0,742

Примечание. НС-модель – нейросетевая модель. Результаты НС-анализа представлены в показателях «нормализованной важности» каждого параметра. Результаты ROC-анализа – в значениях AUC.

Методом кластерного анализа была проведена оценка вероятности формирования кластера из показателей пациентов с ДЗМЖ при учете только тех показателей, которые дали наибольшие значения показателя «нормализованной важности» при НС-анализе и «AUC» при ROC-анализе: CD29, Ki-67, IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A. Показано, что при кластеризации объединенной базы данных пациентов с ИКНТ (№ образцов 1–62) и ДЗМЖ (№ 63–79) по указанным параметрам образцов ткани МЖ при значении евклидова расстояния равным 15 формируются четыре кластера, в один из которых – «кластер III», входят показатели более 90% (94,12%) пациентов с ДЗМЖ (рис. 2).

Подкластер «кластера III», расположенного на евклидовом расстоянии 2,0, содержал параметры трех образцов ДЗМЖ (№ 64, 67, 72) и двух образцов ИКНТ (№ 5, 6). В указанный подкластер вошли образцы от пациентов с ДЗМЖ, имеющих в анамнезе следующие диагнозы: «фиброзно-кистозные изменения пролиферативного типа с атипичной протоковой гиперплазией» (образцы № 64 и 72) и «фиброаденома с выраженной протоковой гиперплазией» (образец № 67). Параметры одного образца ДЗМЖ (отнесенного к другим кластерам) почти совпадали с параметрами ИКНТ. Этот образец был получен от пациента с диагнозом «фиброаденоматоз с выраженной пролиферацией» (кластер I, № 63).

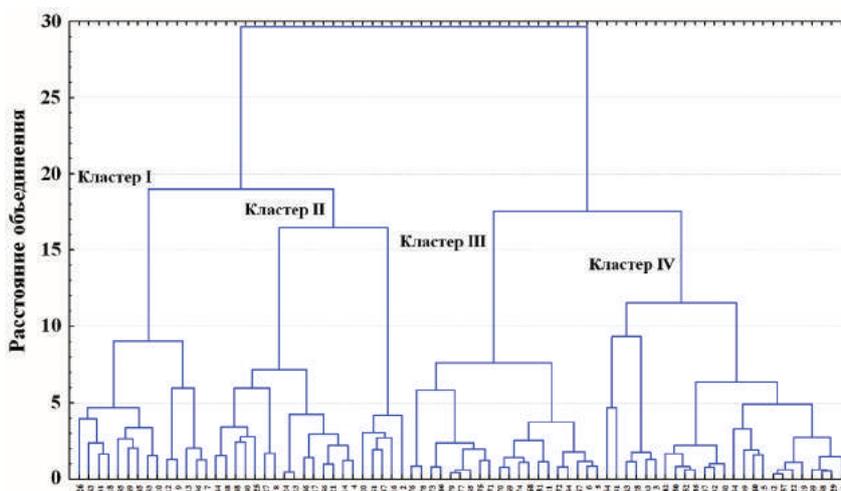


Рис. 2. Результаты многомерного кластерного анализа объединенных данных от пациентов с ИКНТ (№ образцов 1–62) и ДЗМЖ (№ 63–79). Дендрограмма построена по методу Уорда. Горизонтальная ось – зашифрованные номера образцов от разных пациентов с ИКНТ (от 1 до 62) и ДЗМЖ (от 63 до 79), вертикальная ось – расстояние объединения (евклидовы расстояния). Кластеризация проведена на основе одновременного анализа параметров: экспрессии Е-кадгерина, CD29 и Ki-67 в образцах опухоли и уровней секреции IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A образцами опухоли

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные нами параметры образцов ткани МЖ при ИКНТ и ДЗМЖ от разных пациентов варьировали по величине экспрессии иммуногистохимических маркеров ЭМП, пролиферации и по продукции цитокинов. В связи с этим одной из основных задач была разработка нейросетевой модели, которая позволила бы прогнозировать и оценивать вероятность малигнизации доброкачественных образований на основе оценки экспрессии маркеров ЭМП, пролиферации, а также спектра цитокинов, продуцируемых образцами опухоли. Известно, что если выходные параметры модели нейронной сети изменяются, то меняется и важность отдельного параметра опухоли. Выходные данные нейросетевой модели также могут зависеть от способа «обучения»

модели. Поэтому при проведении нейросетевого анализа данных нами было использовано два варианта обучения модели.

При помощи ROC-анализа и нейросетевого анализа нами установлено, что показатели продукции образцами ткани МЖ ряда цитокинов могут обладать даже большей прогностической значимостью для оценки различий между злокачественными опухолями и доброкачественными заболеваниями, чем Е-кадгерин, СП, CD29 и Ki-67. К таким цитокинам отнесены IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A, а также ряд других с меньшей прогностической значимостью. Показано, что при кластеризации объединенной базы данных пациентов с ДЗМЖ и ИКНТ по широкому спектру параметров образцов ткани МЖ, по показателям экспрессии Е-кадгерина, CD29 и Ki-67, а также по показателям продукции цитоки-

нов IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A, формируется кластер, в который входят показатели более 90% пациентов с ДЗМЖ. При этом параметры менее 10% образцов ДЗМЖ, попавших в другие кластеры, практически совпадали с исследованными параметрами ИКНТ.

Эти данные указывают, с одной стороны, на то, что IL-18, TNF α и VEGF-A, вероятно, играют важную роль в формировании микроокружения, способствующего малигнизации ткани МЖ при ДЗМЖ. С другой стороны, при определенном уровне их продукции в качестве маркеров, они могут указывать на вероятность малигнизации ДЗМЖ. Согласно полученным результатам исследования, при ДЗМЖ к вероятному риску малигнизации отнесены пациенты со следующими диагнозами: «фиброаденоматоз с выраженной пролиферацией», «пролиферативная форма фиброкистозной болезни с атипичной протоковой гиперплазией» и «фиброаденома с выраженной протоковой гиперплазией» с наличием межпротоковых пролифератов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют сформировать группу риска пациентов с ДЗМЖ, ткань МЖ которых может малигнизироваться с вероятностью более 90%. Таким образом, более точный прогноз о вероятностной малигнизации ДЗМЖ можно получить, учитывая не только экспрессию в ней Е-кадгерина, СП, CD29 и маркера пролиферации Ki-67, но и уровень продукции цитокинов IL-17, IL-18, TNF α , MCP-1 и VEGF-A.

Полученные данные могут послужить методологической основой для дальнейшего исследования цитокинов, формирующих микроокружение в ткани МЖ при ее доброкачественных заболеваниях, которое, не исключено, может способствовать малигнизации ткани МЖ, а уровень продукции цитокинов может служить маркером для оценки вероятности этого процесса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Roman M., Louro J., Posso M., Vidal C., Bargallo X., Vazquez I. et al. Castells X Long-term risk of breast cancer after diagnosis of benign breast disease by screening mammography. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2022;19(5):2625. DOI: 10.3390/ijerph19052625.
- Kim S., Mai Tran T.X., Song H., Ryu S., Chang Y., Park B. Mammographic breast density, benign breast disease, and subsequent breast cancer risk in 3.9 million Korean women. *Radiology.* 2022;304(3):534–541. DOI: 10.1148/radiol.212727.
- Zeinomar N., Phillips K.A., Daly M.B., Milne N., Dite J., McClinnis R. et al. Benign breast disease increases breast cancer risk independent of underlying Familial risk profile: Findings from a Prospective Family Study Cohort. *Int. J. Cancer.* 2019;145(2):370–379. DOI: 10.1002/ijc.32112.
- Degnim A.C., Nassar A., Stallings-Mann M., Keith Anderson S., Oberg A.L., Vierkant R.A. et al. Gene signature model for breast cancer risk prediction for women with sclerosing adenosis. *Breast Cancer Res. Treat.* 2015;152(3):687–694. DOI: 10.1007/s10549-015-3513-1.
- Visscher D.W., Nassar A., Degnim A.C., Frost M.H., Vierkant R.A., Frank R.D. et al. Sclerosing adenosis and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2014;144(1):205–212. DOI: 10.1007/s10549-014-2862-5.
- Aroner S.A., Collins L.C., Connolly J.L., Colditz G.A., Schnitt S.J., Rosner B.A. et al. Radial scars and subsequent breast cancer risk: results from the Nurses' Health Studies. *Breast Cancer Res. Treat.* 2013;139(1):277–285. DOI: 10.1007/s10549-013-2535-9.
- Arthur R., Wang Y., Ye K., Glass A., Ginsberg M., Loudig O. et al. Association between lifestyle, menstrual/reproductive history, and histological factors and risk of breast cancer in women biopsied for benign breast disease. *Breast Cancer Res. Treat.* 2017;165(3):623–631. DOI: 10.1007/s10549-017-4347-9.
- Salamat F., Niakan B., Keshtkar A., Rafiei E., Zendehtdel M. Subtypes of benign breast disease as a risk factor of breast cancer: a systematic review and meta analyses. *Iran. J. Med. Sci.* 2018;43(4):355–364.
- Degnim A.C., Visscher D.W., Berman H.K., Frost M.H., Sellers T.A., Vierkant R.A. et al. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study. *J. Clin. Oncol.* 2007;25(19):2671–2677. DOI: 10.1200/JCO.2006.09.0217.
- Hartmann L.C., Sellers T.A., Frost M.H., Lingle W.L., Degnim A.C., Ghosh K. et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2005;353(3):229–237. DOI: 10.1056/NEJMoa044383.
- Kalluri R., Weinberg R. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.* 2009;119(6):1420–1428. DOI: 10.1172/JCI39104.
- Lambert A.W., Pattabiraman D.R., Weinberg R.A. Emerging biological principles of metastasis. *Cell.* 2017;168(4):670–691. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.037.
- 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. *Int. J. Oncol.* 2016;48(1):5–12. DOI: 10.3892/ijo.2015.3234.
- Markopoulos G.S., Roupakia E., Marcu K.B., Kolettas E. Epigenetic regulation of inflammatory cytokine-induced epithelial-to-mesenchymal cell transition and cancer stem cell generation. *Cells.* 2019;8(10):1143. DOI: 10.3390/cells8101143.
- Mendez M.J., Hoffman M.J., Cherry E.M., Lemmon C.A., Weinberg S.H. Cell fate forecasting: a data-assimilation approach to predict epithelial-mesenchymal transition. *Biophys. J.* 2020;118(7):1749–1768. DOI: 10.1016/j.bpj.2020.02.011.
- Prieto-Garcia E., Díaz-García C.V., García-Ruiz I., Agullo-Ortuno M.T. Epithelial-to-mesenchymal transition in tumor progression. *Med. Oncol.* 2017;34(7):122. DOI: 10.1007/s12032-017-0980-8.
- Sung J.Y., Cheong J.H. Pan-cancer analysis reveals distinct metabolic reprogramming in different epithelial-mesenchymal

- transition activity states. *Cancers (Basel)*. 2021;13(8):1778. DOI: 10.3390/CANCERS13081778.
18. Miller I., Min M., Yang C., Tian C., Gookin S., Carter D. et al. Ki67 is a graded rather than a binary marker of proliferation versus quiescence. *Cell Rep*. 2018;24(5):1105–1112. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.06.110.
19. Levina V., Su Y., Nolen B., Liu X., Gordin Y., Lee M. et al. Chemotherapeutic drugs and human tumor cells cytokine Network. *Int. J. Cancer*. 2008;123(9):2031–2040. DOI: 10.1002/ijc.23732.
20. Velazquez M.E., Ostoa-Saloma P., Palacios-Arreola M.I., Nava-Castro K.E., Ivonne Castro J., Morales-Montor J. The role of cytokines in brea cancer development and progression. *Interferon Cytokine Res*. 2015; 35(1):1–16. DOI: 10.1089/jir.2014.0026.

Вклад авторов

Аутеншлюс А.И., Архипов С.А., Ляхович В.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Михайлова Е.С., Архипова В.В., Проскура А.В., Вараксин Н.А. – анализ и интерпретация данных; окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Аутеншлюс Александр Исаевич – д-р биол. наук, профессор, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией, НГМУ; гл. науч. сотрудник, НИИМББ, ФНЦ ФТМ, г. Новосибирск, lrscip@211.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7180-010X>

Архипов Сергей Алексеевич – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, НГМУ; ст. науч. сотрудник, НИИМББ, ФНЦ ФТМ, г. Новосибирск, arhipowsergei@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1390-4426>

Михайлова Елена Семёновна – науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, НГМУ, г. Новосибирск, elena.michajlova.58@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8364-819X>

Архипова Валентина Валериевна – мл. науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, НГМУ, г. Новосибирск, valia.arkhipova@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0000-0172-0905>

Проскура Андрей Викторович – канд. мед. наук, науч. сотрудник, НИИМББ, г. Новосибирск, avpdok@ngs.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2313-1591>

Вараксин Николай Анатольевич – зав. лабораторией цитокинов, АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, р.п. Кольцово, varaksin@vector-best.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0733-7787>

Ляхович Вячеслав Валентинович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, науч. руководитель, НИИМББ, ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, lyakh@niimbb.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9619-3422>

✉ **Архипов Сергей Алексеевич**, arhipowsergei@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.04.2023;
одобрена после рецензирования 11.05.2023;
принята к публикации 25.05.2023.



УДК 616.831-005-072.7
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-15-21>



Способ оценки функционального состояния головного мозга при острых внутрибольничных нарушениях мозгового кровообращения

Бразовский К.С.¹, Винокурова Д.А.¹, Стреж В.А.², Усов В.Ю.³

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

² Томский областной онкологический диспансер (ТООД)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115

³ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. акад. Е.Н. Мешалкина
Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

РЕЗЮМЕ

Внутрибольничные нарушения мозгового кровообращения у пациентов кардиохирургического профиля являются тяжелым осложнением в раннем послеоперационном периоде с вероятностью появления до 15%. При развитии тяжелого поражения головного мозга проведение нейровизуализирующих диагностических исследований (компьютерной и магнитно-резонансной томографии) затруднено, что повышает вероятность неблагоприятного исхода.

Цель исследования заключается в разработке способа оценки функционального состояния головного мозга у пациентов с тяжелым течением внутрибольничного инсульта на основе неинвазивных измерений электрической активности центральной нервной системы.

Материалы и методы. Выборка составлена из 20 анонимизированных архивных записей электроэнцефалограммы добровольцев без неврологических нарушений, 10 записей пациентов без неврологических нарушений во время наркоза, 17 записей пациентов из банка данных UCLH Stroke Dataset с внебольничными инсультами и 18 записей, полученных в процессе нейрофизиологического мониторинга пациентов с тяжелым инсультом в раннем послеоперационном периоде. Для оценки функционального состояния разработан и реализован алгоритм вычисления интегрального показателя функционального состояния, характеризующего уровень функциональной активности центральной нервной системы.

Результаты. Предложенный способ оценки функционального состояния головного мозга был применен для анализа нейрофизиологических сигналов, полученных у людей с разной степенью активности нервной системы, от спокойного бодрствования до глубокой комы. Показано, что вычисляемый коэффициент закономерно отражает функциональное состояние головного мозга и может быть использован, в том числе, для раннего обнаружения нарушений, обусловленных церебральной гемодинамической недостаточностью при развитии острого инсульта.

Заключение. Интегральный критерий функционального состояния головного мозга может быть использован для длительного наблюдения за состоянием пациентов кардиохирургического профиля в ранний послеоперационный период.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Томской области в рамках научного проекта № 19-415-700005 (p_a).

Ключевые слова: острый внутрибольничный инсульт, электроэнцефалограмма, функциональное состояние

✉ Бразовский Константин Станиславович, bks_2005@mail.ru

Для цитирования: Бразовский К.С., Винокурова Д.А., Стреж В.А., Усов В.Ю. Способ оценки функционального состояния головного мозга при острых внутрибольничных нарушениях мозгового кровообращения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-15-21>.

A method to evaluate the functional state of the human brain after acute in-hospital stroke

Brazovskii K.S.¹, Vinokurova D.A.¹, Strezh V.A.², Ussov V.Yu.³

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Tomsk Regional Oncology Center
15, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ E.N. Meshalkin National Research Medical Center
15, Rechkunovskaya Str., 15, Novosibirsk, 630055, Russian Federation

ABSTRACT

Acute in-hospital stroke is a severe complication of the early recovery period after cardiovascular surgery with a probability of up to 15%. Unfortunately, in-time diagnostic neuroimaging (computed tomography and magnetic resonance imaging) in cases of severe brain damages is considerably hindered increasing the risk of an adverse outcome.

The aim of the study was to develop a method to evaluate the functional state of the human brain in patients with severe in-hospital stroke measuring parameters of electrical activity in the central nervous system.

Materials and methods. The sample was composed of 20 anonymous archived electroencephalograms obtained from volunteers with no neurological disorders, 10 records of patients without neurological symptoms during general anesthesia, 17 records of patients with out-of-hospital strokes obtained from the UCLH Stroke EIT Dataset, and 18 records from patients with acute in-hospital stroke during neuromonitoring in the early postoperative recovery period. A new integral coefficient of the functional state was introduced, and an algorithm to calculate the proposed measure of the functional activity of the central nervous system was developed and implemented.

Results. The proposed method to evaluate the functional state of the human brain was applied to analyze neurophysiological records obtained from people with different activity of the nervous system: from resting state to deep coma. It was shown that the integral coefficient naturally reflects the functional state of the human brain and can be used for early detection of brain dysfunction and damages caused by cerebral hemodynamic impairment.

Conclusion. The introduced integral criterion to evaluate the functional state of the human brain can be used for long-term postoperative monitoring in cardiac patients who underwent surgical treatment.

Keywords: acute in-hospital stroke, electroencephalogram, functional state

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

Source of funding. The study was funded by the Russian Foundation for Basic Research and the Administration of the Tomsk Region within the research project No.19-415-700005 (r_a).

For citation: Brazovskii K.S., Vinokurova D.A., Strezh V.A., Ussov V.Yu. A method to evaluate the functional state of the human brain after acute in-hospital stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-15-21>.

ВВЕДЕНИЕ

Вероятность развития острого внутрибольничного инсульта в раннем периоде восстановления после кардиохирургических вмешательств составляет до 15% [1], при этом своевременная диагностика этого состояния может быть значительно затруднена, особенно у пациентов, находящихся в состоянии комы. По данным исследования [1], в большинстве случаев диагностика ишемического инсульта была произведена в течение 3–6 ч от момента его начала. Учитывая высокий риск развития инсульта в течение 3–7 сут после операции, нейрофизиологический мониторинг может рассматриваться как эффективный инструмент раннего обнаружения нарушений мозгового кровообращения в послеоперационном периоде [2]. К сожалению, электрическая активность головного мозга (электроэнцефалограмма, ЭЭГ) представляет собой сложный шумоподобный сигнал, характеризующийся низкой специфичностью по отношению к причинам нарушения мозговой деятельности [3].

Проведенный метаанализ показал, что диагностическое и прогностическое значение ЭЭГ в значительной степени зависит от используемых ЭЭГ-критериев инсульта и квалификации специалиста-нейрофизиолога. Принимая во внимание техническую трудоемкость нейрофизиологических исследований, особенно в режиме непрерывного круглосуточного мониторинга, а также сложность клинической интерпретации получаемых данных, можно предположить, что это является основной причиной малой распространенности данного вида мониторинга в раннем послеоперационном периоде.

В последние несколько лет многочастотная и широкополосная электроимпедансная томография (ЭИТ) рассматривается как перспективный метод раннего обнаружения нарушений мозгового кровообращения [4]. Привлекательная особенность ЭИТ заключается в возможности построения трехмерных изображений области интереса, что ставит ее в один ряд с методами визуализирующей диагностики, такими как компьютерная и магнитно-резонансная томография. К сожалению, ЭИТ не может достичь пространственного разрешения, необходимого для обнаружения нарушений мозгового кровообращения на ранних стадиях, как следствие, клинического применения этот метод пока не нашел.

В работе [5] предложены так называемые ЭЭГ-биомаркеры, воспроизводимо наблюдаемые у пациентов, перенесших инсульт. К сожалению, измерение необходимых параметров подразумевает выполнение пациентом определенных движений, что невозможно для пациентов в раннем послеопе-

рационном периоде. Еще одна группа ЭЭГ-биомаркеров основана на пространственном картировании и оценке «связанности» кортикальной активности в состоянии спокойного бодрствования [6]. В результате проведенного исследования авторы показали, что предложенный способ позволяет прогнозировать процессы функционального восстановления на длительных интервалах времени, но малопригоден для непрерывного мониторинга в послеоперационный период.

Критерии оценки функционального состояния головного мозга, основанные на измерении мощности и частоты основных ритмов электрической активности головного мозга, составляют значительную часть современных методов формального анализа ЭЭГ. В частности, в работе [7] формальные параметры ЭЭГ используются как независимые переменные для построения частичных регрессионных моделей, связывающих мощность основных ритмов ЭЭГ и баллы шкалы NIHSS. Поскольку модели были получены на основе записей ЭЭГ с 256 каналов, их практическая применимость вызывает большие сомнения.

Значительное количество публикаций посвящено попыткам применить методы, созданные как инструменты оценки глубины анестезии (например, биспектральный индекс, энтропия, информационная сложность ЭЭГ и др.) в качестве методов мониторинга функционального состояния головного мозга при инсульте. К сожалению, консенсус относительно чувствительности и специфичности этих методов, а также их информативности при непрерывном мониторинге мозговых функций в раннем послеоперационном периоде все еще не найден, хотя необходимость применения сомнений не вызывает [8].

Цель исследования заключается в разработке способа объективной оценки функционального состояния головного мозга у кардиохирургических пациентов, перенесших острый внутрибольничный инсульт в раннем послеоперационном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены обезличенные архивные записи ЭЭГ, полученные в Сибирском государственном медицинском университете (20 записей, без неврологических нарушений), в НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра (Томский НИМЦ) (10 записей пациентов без неврологических нарушений во время наркоза), 17 записей пациентов из банка данных UCLH Stroke Dataset с внебольничными инсультами [9] и 18 записей, полученных в НИИ кардиологии Томского НИМЦ в процессе нейрофизиологического мониторинга пациентов с тяжелым инсультом в

раннем послеоперационном периоде. Записи приведены к единому формату: частота дискретизации 250 Гц, разрешение по амплитуде 0,25 мкВ, диапазон частот от 0 до 100 Гц. Предварительная фильтрация заключалась в применении фильтра верхних частот с постоянной времени 0,16 с и фильтра нижних частот с частотой среза 100 Гц.

Для регистрации ЭЭГ были использованы приборы «Энцефалан-131-03» («Медиком», Россия, г. Таганрог), «Нейрон-Спектр» («Нейрософт», Россия, г. Иваново) и Biosemi Active Two system (Biosemi, Нидерланды). Все приборы имеют сопоставимые технические параметры. Во всех записях электроды фиксировались согласно общепринятой схеме «10/20». После проведения пробных вычислений было установлено, что для вычисления интегрального индекса функционального состояния минимально необходимое и достаточное количество каналов регистрации равно 8, поэтому записи были перемонтированы в монополярную схему отведений О1-А1, Р1-А1, С1-А1, F3-А1, О2-А2, Р2-А2, С2-А2, F4-А4 с ипсилатеральными ушными референсными электродами.

Все вычисления, включая обработку сигналов и статистический анализ, проведены в свободно распространяемой среде Rstudio [10] с использованием пакетов Signal и edfReader. Уровень значимости при расчете доверительных интервалов и проверке статистических гипотез был принят равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки функционального состояния головного мозга предложен безразмерный индекс функционального состояния λ , изменяющийся от 0 до 100%, при этом 0 соответствует изоэлектрической линии (смерть мозга), 100% – состоянию активного бодрствования. Алгоритм вычисления λ состоит из следующих этапов:

Предварительная обработка многоканальной записи ЭЭГ: устранение дрейфа изолинии, фильтрация высокочастотных составляющих от 100 Гц и выше, удаление помехи частотой 50 Гц.

Анализ многоканального сигнала методом независимых компонент (independent component analysis, ICA):

$$S_i(C_1, C_2) = ICA(EEG, ch_i, ch_{ref}),$$

где S_i – декомпозиция сигнала в виде независимых компонент; компонент C_{li} содержит, преимущественно, сигнал электрической активности головного мозга в канале с номером i ; C_2 представляет сумму артефактов с амплитудой, значительно превышающей амплитуду ЭЭГ в данном отведении. Источни-

ками подобных артефактов являются электрическая активность сердца, движения глаз, дислокация электродов и артефакты движений.

Преобразование ЭЭГ в независимые компоненты осуществляется для пары каналов, причем один канал всегда выбирается референсным (А1 или А2, для левого и правого полушария соответственно). Такой подход позволяет эффективно подавлять артефакты и, как следствие, снижать погрешность биспектрального анализа.

Биспектральный анализ компонента C_{li} с последующим вычислением параметров гауссовости и линейности сигнала по методу Хинича [11], а также бикогерентности и спектральной мощности в диапазоне частот от 0,5 до 47 Гц. Для построения биспектра используется быстрое преобразование Фурье с окном $n = 512$ отсчетов и оконной взвешивающей функцией Хэмминга $w(n)$. Биспектры вычисляются для компонента C_l каждого канала независимо.

Производится оценка нормальности распределения и линейности сигнала по критериям, предложенным в [6]. В том случае, если нет значительных отклонений от нормального закона распределения и линейности, производится вычисление интегрального индекса функционального состояния λ :

$$Sp(f, l) = FFT_n(w(n) \cdot C_l(l + n + m)); l \in (1, M - n - m)$$

$$B1 = \sum_{f1=0.5}^8 \sum_{f2=0.5}^8 (Sp(f1)Sp(f2)Sp^*(f1 + f2))^2$$

$$B2 = \sum_{f1=0.5}^{47} \sum_{f2=0.5}^{47} (Sp(f1)Sp(f2)Sp^*(f1 + f2))^2$$

$$\beta = \begin{cases} \|C_1\|, & \|C_1\| < 1 \\ 1, & \|C_1\| \geq 1 \end{cases}$$

$$\lambda = 100 \cdot \left(1 - \sqrt{\frac{B1}{B2}}\right) \cdot \beta$$

где Sp – Фурье-преобразование независимого компонента C_l ; f_1, f_2 – частотные диапазоны; $B1$ – суммарная мощность низкочастотных биспектральных компонент; $B2$ – суммарная мощность биспектра в диапазоне частот от 0,5 до 47 Гц; β – поправочный коэффициент; λ – индекс функционального состояния.

Шаги 3 и 4 повторяются со сдвигом окна на m отсчетов, при этом m выбирается из ряда 32, 64, 128, 256 как компромисс между трудоемкостью вычислений и временной дискретностью расчета λ .

Выбор граничных частот основан на общепринятых в нейрофизиологии диапазонах электрической активности головного мозга, частота 8 Гц – это нижняя граница частоты альфа-ритма, верхняя частота 47 Гц выбрана из соображений необходимости подавления помехи с частотой сети 50 Гц.

Для иллюстрации возможностей предложенного индекса функциональной активности этот показате-

ль был вычислен по архивным ЭЭГ, записанным у здоровых людей в состоянии сна, у пациентов во время проведения хирургического вмешательства, а также у пациентов, находящихся в коматозном состоянии вследствие тяжелого течения внутрибольничного инсульта (рис.). Сплошная линия отображает среднее значение λ за предшествующие 30 с, доверительные интервалы вычислены для уровня значимости $\alpha = 0,05$ и $n = 30$.

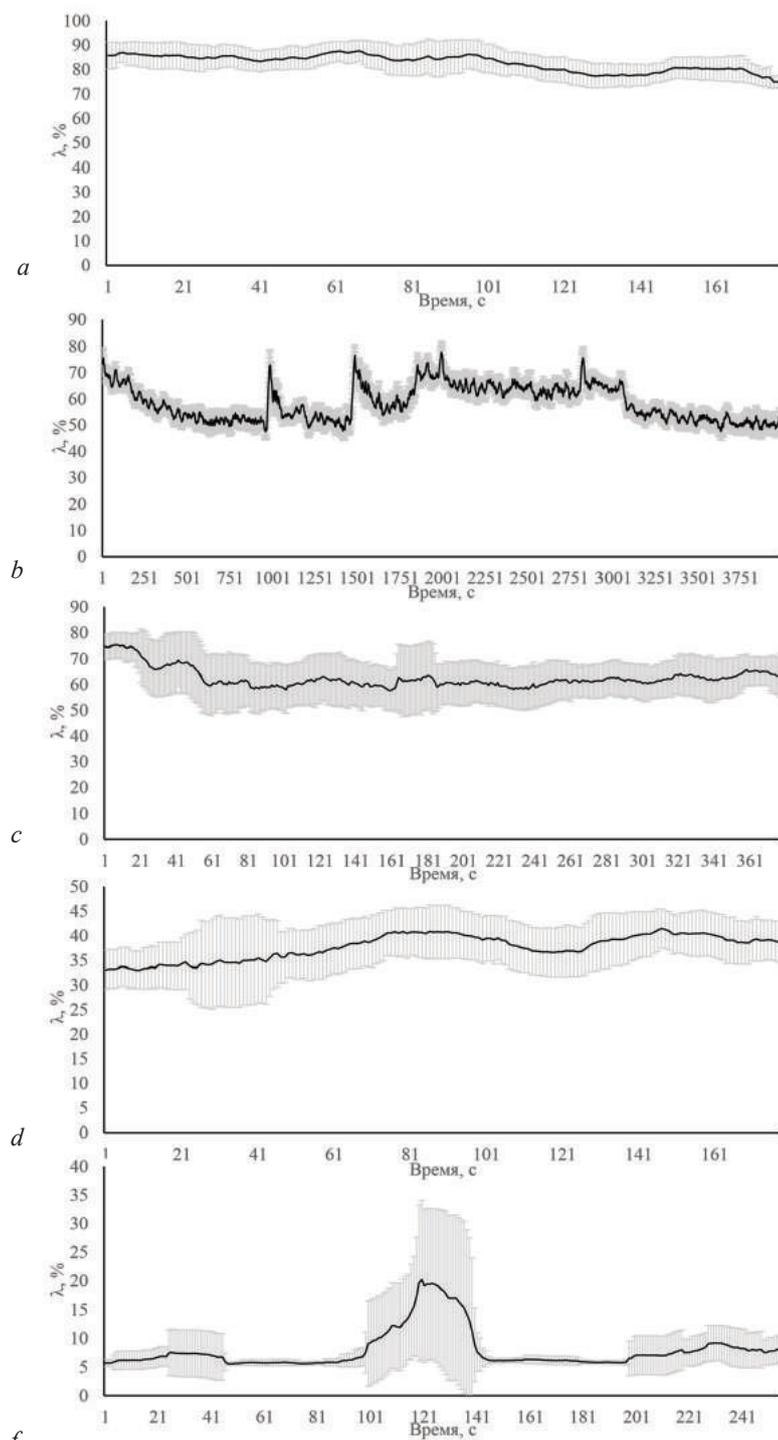


Рисунок. Динамика индекса функциональной активности: *a* – во время спокойного бодрствования; *b* – во время физиологического сна; *c* – во время хирургической операции, вводный наркоз; *d* – кома стадии III; *f* – кома стадии IV

Можно отметить (см. рис. *b, c*), что динамика индекса λ закономерно отражает функциональное состояние головного мозга с неопределенностью не более 10% на всем промежутке регистрации. Это свидетельствует о высокой устойчивости предложенного метода в норме и при изменении ЭЭГ в пределах физиологической variability.

По мере утяжеления состояния наблюдается не только снижение абсолютных величин индекса λ , но и значительное увеличение доверительного интервала значений (см. рис. *d, f*). Этот факт косвенно свидетельствует о том, что по мере снижения уровня функциональной активности головного мозга происходит не только замедление основных ритмов, но и нарушение взаимодействия между отделами коры.

Наблюдаемые закономерности динамики индекса функциональной активности на качественном уровне совпадают с клинико-нейрофизиологическими критериями оценки тяжести повреждения головного мозга [1]. Авторы [1] показали, что ключевыми факторами оценки тяжести состояния пациента при остром инсульте являются, наряду с неврологическими симптомами, отсутствие доминирующего ритма в затылочных отведениях, снижение частоты и ареактивность ЭЭГ на внешние стимулы.

Рассмотренные ситуации несут, скорее, иллюстративный характер и позволяют наглядно убедиться в том, что на основании предложенного индекса функциональной активности они могут быть однозначно разделены. Типичные клинические случаи, разумеется, значительно сложнее, и разница может быть не столь очевидной, поскольку абсолютные значения индекса функциональной активности позволяют судить лишь о значительных изменениях функционального состояния головного мозга.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предложенный нами способ оценки функционального состояния на основе анализа электрической активности головного мозга основан на общепринятых нейрофизиологических представлениях о характере изменений ЭЭГ по мере угнетения активности головного мозга. Один из самых известных показателей – биспектральный индекс (BIS), характеризующий глубину анестезии, базируется на аналогичных представлениях. Предложенный нами алгоритм вычисления индекса λ существенно отличается от ранее опубликованных следующими особенностями:

Для расчетов используются преобразование ЭЭГ сигнала методом независимых компонентов, что позволяет в значительной степени снизить влияние артефактов и помех на воспроизводимость вычисления индекса.

Используются как минимум 8 независимых отведений ЭЭГ, что позволяет уменьшить неопределенность индекса за счет межканального усреднения.

Введена коррекция вычисленных значений индекса с учетом фактической амплитуды независимых компонентов ЭЭГ в текущий момент времени. Эта мера позволила расширить диапазон устойчивой работы алгоритма вплоть до минимальных значений амплитуды ЭЭГ, которые наблюдаются при крайне тяжелом поражении головного мозга.

Основным недостатком предложенного индекса является низкая специфичность по отношению к этиологии угнетения функциональной активности головного мозга. Без анамнестических данных установить причину повреждения мозга невозможно. Еще одно ограничение обусловлено малыми размерами и низкой репрезентативностью выборки ЭЭГ, использованной в работе. Для установления клинически значимых границ индекса функциональной активности при его применении для определения степени тяжести повреждения в абсолютных значениях необходимо проведение исследования на выборке большего размера, охватывающей основные категории пациентов. Тем не менее в режиме сравнения с исходным состоянием пациента предложенный индекс обладает необходимой чувствительностью по отношению к изменению функциональной активности головного мозга.

В настоящее время возможно два применения индекса в клинической практике: контроль глубины анестезии и нейрофизиологический мониторинг в ранний послеоперационный период. С нашей точки зрения, наибольший эффект может быть получен при непрерывном контроле состояния пациентов кардиохирургического профиля в ранний послеоперационный период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный индекс функционального состояния головного мозга обладает рядом положительных свойств с точки зрения воспроизводимости оценок и понятной интерпретации динамики изменений. Метод устойчив к помехам в исходных данных, поскольку расчеты проводятся по большому массиву с последующим усреднением. Для оценки клинически значимых свойств предложенного индекса (чувствительности и специфичности) при различных патологических состояниях необходимы дополнительные исследования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Синкин М.В., Каймовский И.Л., Комольцев И.Г., Трифонов И.С., Штеклейн А.А., Цыганкова М.Е., Гехт А.Б. Элек-

- троэнцефалография в остром периоде инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(8-2):10–16. DOI: 10.17116/jnevro202012008210.
2. Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Миронов А.В. Периперационный ишемический инсульт как исход реваскуляризации головного мозга. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2020;13(4):299–302. DOI: 10.17116/kardio202013041299.
 3. Sutcliffe L., Lumley H., Shaw L. et al. Surface electroencephalography (EEG) during the acute phase of stroke to assist with diagnosis and prediction of prognosis: a scoping review. *BMC Emergency Medicine*. 2022;22(29). DOI: 10.1186/s12873-022-00585-w.
 4. Goren N., Avery J., Dowrick T. et al. Multi-frequency electrical impedance tomography and neuroimaging data in stroke patients. *ScientificData*. 2018;5:180112. DOI: 10.1038/sdata.2018.112.
 5. Sebastián-Romagosa M., Udina E., Ortner R., Dinarès-Ferran J., Cho W., Murovec N. et al. EEG biomarkers related with the functional state of stroke patients. *Front. Neurosci*. 2020;14:582. DOI: 10.3389/fnins.2020.00582.
 6. Vecchio F., Tomino C., Miraglia F., Iodice F., Erra C., DiIorio R. et al. Cortical connectivity from EEG data in acute stroke: A study via graph theory as a potential biomarker for functional recovery. *International Journal of Psychophysiology*. 2019;146(3):133–138. DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2019.09.012.
 7. Wu J., Srinivasan R., BurkeQuinlan E., Solodkin A., Small S.L., Cramer S.C. Utility of EEG measures of brain function in patients with acute stroke. *Journal Neurophysiology*. 2016;115(5):2399–2405. DOI: 10.1152/jn.00978.2015.
 8. Симонов О.В., Прямыков А.Д., Лолуев Р.Ю., Сурияхин В.С., Переведенцева Е.В., Сафронова М.А. и др. Регионарная анестезия при каротидной энтертерэктомии у пациентов в остром периоде ишемического инсульта (пилотное исследование). *Общая реаниматология*. 2022;18(6):4–11. DOI: 10.15360/1813-9779-2022-6-4-11.
 9. Филимонова П.А., Волкова Л.И., Алашеев А.М., Михайлов А.В., Гричук Е.А. Внутрибольничный инсульт у пациентов после кардиохирургических операций и инвазивных вмешательств на сердце. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;9(4):38–45. DOI: 10.14412/2074-2711-2017-4-38-45.
 10. RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL. 2020. URL: <http://www.rstudio.com/>.
 11. Hinich M.J. Testing for gaussianity and linearity of a stationary time series. *Journal of Time Series Analysis*. 1982;3(3):169–176.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Научно-исследовательскому институту кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра и лично Михаилу Павловичу Плотникову за помощь в проведении исследования.

Информация об авторах

Бразовский Константин Станиславович – д-р техн. наук, профессор кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, bks_2005@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4779-9820>

Винокурова Дарья Александровна – зав. терапевтической клиникой, СибГМУ, г. Томск, vinokurovadarial@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-8422-8349>

Стреж Владимир Анатольевич – зав. отделением анестезиологии-реанимации, ТООД, г. Томск, v.strezh@mail.ru

Усов Владимир Юрьевич – гл. науч. сотрудник, отдел лучевых и инструментальных методов диагностики, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск ussov1962@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7978-5514>

✉ **Бразовский Константин Станиславович**, bks_2005@mail.ru

Поступила в редакцию 09.03.2023;
одобрена после рецензирования 13.03.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Экспериментальное исследование эффективности дексаметазона на модели липополисахарид-индуцированного острого повреждения легких у крыс

Волошин Н.И.¹, Пугач В.А.², Салухов В.В.¹, Тюнин М.А.², Минаков А.А.¹, Ильинский Н.С.², Левчук Е.В.²

¹ Военно-медицинская академия (ВМедА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, бж

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины (ГНИИИ ВМ)
Россия, 195043, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить эффективность и безопасность применения дексаметазона в различных дозах на экспериментальной модели прямого острого повреждения легких (ОПЛ).

Материалы и методы. Исследование выполнено на 80 белых беспородных самцах крыс, у которых моделировали ОПЛ посредством интратрахеального введения липополисахарида. Животные были разделены на четыре группы: контрольная группа и экспериментальные группы № 1–3, где животным по лечебной схеме (внутрибрюшинно, 1 раз/сут, в течение 3 сут) вводили дексаметазон в дозах 0,52; 1,71 и 8,00 мг/кг/сут соответственно. В целях оценки эффективности и безопасности дексаметазона на 3-е сут эксперимента проводили клинический, биохимический и гемостазиологический анализ крови, а также оценивали выраженность отека легких по изменению массового коэффициента и степени влагонасыщения органа.

Результаты. Использование дексаметазона в модели ОПЛ повышало выживаемость крыс в сравнении с контрольными животными в группах № 1 и 2 на 35% ($p < 0,05$), а в группе № 3 – только на 20%. Массовый коэффициент легких и степень влагонасыщения легких у крыс при использовании дексаметазона во всех исследованных дозах были одинаково снижены в среднем на 28% ($p < 0,05$) и 17% ($p < 0,05$) соответственно ($p < 0,05$). Степень выраженности побочных эффектов дексаметазона (гипергликемия, гиперпротеинемия, гиперкалиемия, гиперкоагуляция, повышение активности креатинфосфокиназы в крови) носила дозозависимый характер и была максимальной в группе № 3 (доза дексаметазона 8,00 мг/кг/сут).

Заключение. Эффективность как низких (0,52 мг/кг/сут), так и высоких (8,00 мг/кг/сут) доз дексаметазона на экспериментальной модели ОПЛ у крыс характеризуется одинаковым противоэдематозным эффектом. По совокупности результатов лабораторных исследований крови и анализа выживаемости крыс наиболее безопасным следует считать применение дексаметазона в минимальной дозе (0,52 мг/кг/сут).

Ключевые слова: липополисахарид, дексаметазон, острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром, биомоделирование

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 Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (протокол № 258 от 21.12.2021).

Для цитирования: Волошин Н.И., Пугач В.А., Салухов В.В., Тюнин М.А., Минаков А.А., Ильинский Н.С., Левчук Е.В. Экспериментальное исследование эффективности дексаметазона на модели липополисахари-

The experimental study of dexamethasone effectiveness in a model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats

Voloshin N.I.¹, Pugach V.A.², Salukhov V.V.¹, Tyunin M.A.², Minakov A.A.¹, Ilyinskiy N.S.², Levchuk E.V.²

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy

6g, Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

² State Research Institute for Experimental Military Medicine

4, Lesoparkovaya Str., Saint Petersburg, 195043, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the efficacy and safety of dexamethasone at various doses in an experimental model of direct acute lung injury (ALI).

Materials and methods. The study was performed on 80 white outbred male rats, in which ALI was modeled by intratracheal administration of lipopolysaccharide. The animals were divided into 4 groups: the control group and three experimental groups (groups 1–3), where the animals were intraperitoneally administered dexamethasone at doses of 0.52, 1.71, and 8.00 mg / kg / day, respectively, for 3 days. A complete blood count, blood biochemistry test, and hemostatic tests were performed to assess the efficacy and safety of dexamethasone on day 3 of the experiment. The severity of pulmonary edema was assessed by changes in the lung weight coefficient and the wet / dry weight ratio.

Results. The use of dexamethasone in the ALI model increased the survival of rats in groups 1 and 2 by 35% ($p < 0.05$), and in group 3 only by 20% compared with control animals. The rat lung weight coefficient and the wet / dry weight ratio when using dexamethasone at all doses studied were equally reduced by an average of 28% ($p < 0.05$) and 17% ($p < 0.05$), respectively ($p < 0.05$). The severity of side effects of dexamethasone (hyperglycemia, hyperproteinemia, hyperkalemia, hypercoagulability, increased activity of creatine phosphokinase in the blood) was dose-dependent and was maximum in group 3 (dexamethasone dose 8.00 mg / kg / day).

Conclusion. The effectiveness of both low (0.52 mg / kg / day) and high (8.00 mg / kg / day) doses of dexamethasone in an experimental model of ALI in rats is characterized by the same anti-edematous effect. Based on the results of the blood tests and the analysis of rat survival, the use of dexamethasone at the lowest dose (0.52 mg / kg / day) should be considered the safest.

Keywords: lipopolysaccharide, dexamethasone, acute lung injury, acute respiratory distress syndrome, biomodeling

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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 S.M. Kirov Military Medical Academy (Protocol No. 258 of 21.12.2021).

For citation: Voloshin N.I., Pugach V.A., Salukhov V.V., Tyunin M.A., Minakov A.A., Ilyinskiy N.S., Levchuk E.V. The experimental study of dexamethasone effectiveness in a model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):22–30. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-22-30>.

ВВЕДЕНИЕ

Человечество в последние две декады постоянно сталкивается с вызовами, которые ставят перед ним вспышки инфекционных заболеваний (эпиде-

мия коронавирусов MERS-CoV, SARS-CoV, гриппа A/H1N1, пандемия новой коронавирусной инфекции). Тяжелые формы данных инфекционных заболеваний нередко приводят к значительному повреждению легочной ткани, вплоть до развития острого респи-

раторного дистресс-синдрома взрослых (ОРДС), летальность при котором достигает 35–45% [1].

Один из методов поиска оптимальных средств диагностики, профилактики и лечения ОРДС у человека – это экспериментальное биомоделирование острого повреждения легких (ОПЛ) у лабораторных животных, которое максимально приближено к клиническим проявлениям ОРДС [2]. Идеальная экспериментальная модель ОПЛ должна воспроизводить механизмы и последствия ОРДС у человека и иметь следующие проявления: клинические (острое начало, диффузное двустороннее повреждение легких, острая экссудативная фаза, в исходе пролиферация и фиброз); патофизиологические (нарушение вентилиционно-перфузионного отношения, гипоксемия, снижение комплаенса легочной ткани, нарушение альвеолярного клиренса жидкости); биохимические (увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, гемостазиологические нарушения) и патоморфологические изменения (нейтрофильная инфильтрация ткани легких, повреждение альвеолярного эпителия и нарушение проницаемости аэрогематического барьера, формирование гиалиновых мембран) [2]. Модель липополисахарид-индуцированного ОПЛ у лабораторных животных в полной мере отвечает вышеперечисленным требованиям и широко используется исследователями в целях поиска и обоснования схем противовоспалительной терапии ОРДС с использованием препаратов из группы глюкокортикостероидов [3, 4].

Так, например, в работах М. Qin и соавт. [5], J.W. Jang и соавт. [6] прослежено угнетение сигнальных воспалительных путей NF- κ B, p38, инфлам-масы NLRP3 на фоне введения дексаметазона в дозах 5 и 6 мг/кг на модели ОПЛ у мышей, что приводило к снижению летальности, отека легких, нейтрофильной инфильтрации ткани и микротромбозов в сосудах легких, а также к снижению уровней провоспалительных цитокинов в крови и бронхоальвеолярном лаваже. В другом исследовании с использованием аналогичной экспериментальной модели показано, что дексаметазон в дозе 1 мг/кг проявляет антиоксидантные свойства, подавляя функционирование индуцируемой NO-синтазы в макрофагах и полиморфноядерных лейкоцитах, увеличивая экспрессию гемоксигеназы 1-го типа в легочной ткани [7]. Еще одним положительным эффектом терапии дексаметазоном, выявленном в эксперименте, стало снижение концентрации продуктов распада аутоагрессивных факторов в периферическом кровотоке и бронхоальвеолярном лаваже у мышей [8].

В клинической практике глюкокортикостероиды применяются в составе комплексной терапии ОРДС,

но до сих пор врачебным сообществом интенсивно обсуждается их место в данной терапии. Результаты метаанализов, посвященные оценке эффективности глюкокортикостероидов, часто противоречат друг другу из-за различий в отборе пациентов, неоднородности причин ОРДС, схем введения (сроки начала, используемые фармакологические средства, дозировка, продолжительность лечения) и обработке полученных данных [3].

Цель исследования – оценка эффективности и безопасности применения дексаметазона в различных дозах на экспериментальной модели прямого ОПЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 80 белых беспородных самцах крыс (возраст 8–10 нед, масса 310–320 г). Животные содержались в условиях вивария с соблюдением основных зооигиенических требований: температурный режим 20–24 °С, 12-часовой световой день, свободный доступ к корму и воде. Исследование проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

ОПЛ моделировали посредством интратрахеального (и/т) введения ЛПС клеточной стенки бактерии *Salmonella enterica* (Sigma-Aldrich, США) в дозе 20 мг/кг. Перед выполнением и/т введения животных наркотизировали с помощью внутривентрикулярной (в/в) инъекции препарата «Золетил 100» в дозе 4,0 мг/кг. Процедуру и/т введения ЛПС выполняли с помощью зонда для крыс (MicroSprayer Aerosolizer, модель IA-1B, США) через 5 мин после наркотизации животных.

Животные были разделены на четыре группы: контрольная группа с ОПЛ и экспериментальные группы № 1–3, где животным через 3 ч после моделирования ОПЛ по лечебной схеме (внутрибрюшинно, 1 р/сут, в течение 3 сут) вводили дексаметазон в дозах 0,52; 1,71 и 8,00 мг/кг соответственно. Дозы дексаметазона для введения крысам были рассчитаны с помощью методики межвидового переноса доз с учетом площади поверхности тела и были эквивалентны суточным дозам глюкокортикостероида равным 6, 20 и 94 мг для человека соответственно [9].

На 3-и сут эксперимента у животных из каудальной полой вены отбирали пробы крови для проведения лабораторных исследований. Клинический анализ крови выполняли на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе (Mythic 18 Vet, Швейцария), а биохимический анализ – на автоматическом анализаторе (ChemWell 2910,

США). Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время, уровень фибриногена и активность антитромбина (%) определяли на полуавтоматическом анализаторе-коагулометре (Тсоаг КС 4 Delta, Ирландия). Уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) исследовали в паракоагуляционном фенантролиновом тесте (НПО «Ренам», Россия). Исследование газового и электролитного состава крови проводили при помощи автоматического анализатора Abbot I-STAT (Abbot, США). Определяли следующие показатели газового и электролитного состава крови: Na, K, Ca, pH, pCO₂, pO₂, TCO₂, HCO₃⁻, BE, sO₂. После отбора проб крови у животных оценивали выраженность отека легких путем проведения морфометрических исследований с определением массового коэффициента легких (МКЛ) и степени их влагонасыщения. Массовый коэффициент легких рассчитывали по формуле (масса легких, г / масса животного, г) × 1 000. Степень влагонасыщения рассчитывали по формуле: масса мокрого легкого, г / масса мокрого легкого, г. Перед расчетом степени влагонасыщения легкие сушили в течение 5 сут в термостате при температуре 37 °С.

Для проверки гипотез, представленных в данном исследовании, проводили статистический анализ результатов в программе Graph Pad Prism 8.0. Результаты представляли в виде медианы верхнего и нижнего квартилей $Me [Q_1; Q_3]$. Для множественного сравнения количественных переменных использовали критерий Краскела – Уоллиса с проведением последующего апостериорного попарного сравнения с помощью теста Данна. Связь между качественными показателями (летальность) оценивали посредством построения четырехпольных таблиц сопряженности и расчета на их основе точного критерия Фишера с последующим построением кривой выживаемости Каплана – Мейера. Различия были определены при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс контрольной группы чаще регистрировали диспноэ и тахипноэ по отношению к группам сравнения, где животным вводили дексаметазон в различных дозах, что свидетельствовало о развитии дыхательной недостаточности. В контрольной группе показатель выживаемости составил 60%. Показатель выживаемости в группах № 1 (дексаметазон, 0,52 мг/кг/сут) и № 2 (дексаметазон, 1,71 мг/кг/сут) достигал 95%, а в группе в группе № 3 (дексаметазон, 8,00 мг/кг/сут) – 80% (рис. 1).

В группах № 1–3 наблюдали статистически значимые различия в значениях показателя МКЛ

по сравнению с контрольной группой ($p = 0,002$; $p = 0,03$; $p = 0,0001$ соответственно). Степень влагонасыщения легких также оказалась статистически значимо меньше во всех трех экспериментальных группах по отношению к контролю ($p = 0,006$ и $p = 0,04$; $p = 0,02$) (рис. 2).

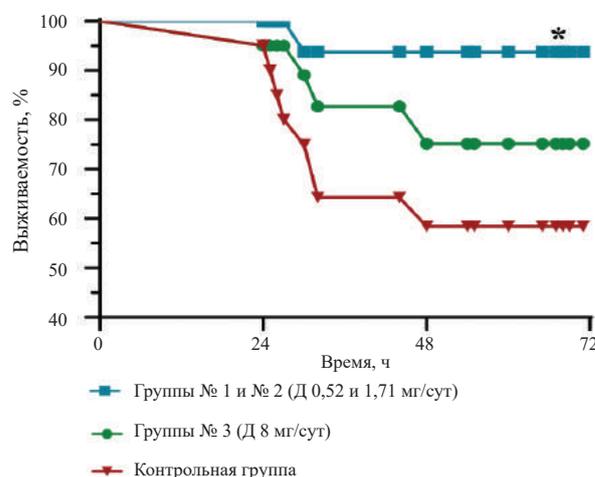


Рис. 1. Кривые выживаемости Каплана – Мейера после введения ЛПС и лечения различными дозами дексаметазона. Здесь и на рис. 2–5 Д – дексаметазон. * различия статистически значимы относительно контрольной группы ($p < 0,05$, точный критерий Фишера)

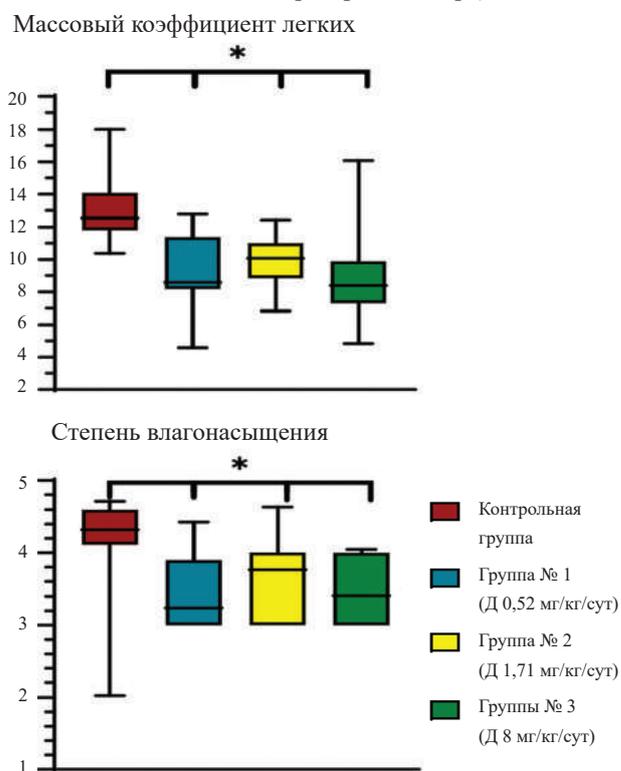


Рис. 2. Влияние дексаметазона на массовый коэффициент и степень влагонасыщения на 3-и сут после моделирования острого повреждения легких, $Me [Q_1; Q_3]$. * различия статистически значимы относительно контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса)

На фоне применения дексаметазона наблюдали характерные изменения в лейкоцитарной формуле, которые проявлялись в виде статистически значимо меньших значений показателей абсолютного и относительного количества лимфоцитов ($p = 0,002$; $p = 0,02$; $p = 0,04$). Одновременно с этим наблюдали увеличение абсолютного и относительного ко-

личества моноцитов ($p = 0,03$; $p = 0,007$ и $p = 0,01$ соответственно) и гранулоцитов ($p = 0,08$; $p = 0,007$; $p = 0,09$).

Количество тромбоцитов было статистически значимо меньше в группе № 3 при сопоставлении с группами № 1, 2 и контрольной группой ($p = 0,006$; $p = 0,004$; $p = 0,02$) (таблица).

Таблица

Показатели клинического анализа крови у крыс на 3-и сут после моделирования ОПЛ и лечения различными дозами дексаметазона, Ме [Q ₁ ; Q ₃]				
Показатель	Экспериментальные группы			
	контрольная группа	группа № 1 (дексаметазон 0,52 мг/кг/сут)	группа № 2 (дексаметазон 1,71 мг/кг/сут)	группа № 3 (дексаметазон 8 мг/кг/сут)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,6 [7,0; 11,0]	7,9 [6,9; 8,0]	8,3 [6,7; 11,0]	8,5 [7,2; 10,0]
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	5,4 [4,6; 5,8]	1,7* [0,8; 2,2]	2,1* [1,4; 2,8]	2,4* [1,6; 3,0]
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,4 [0,3; 0,5]	0,9* [0,7; 1,2]	1,0* [0,7; 1,3]	1,0* [1,0; 1,3]
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	1,5 [1,3; 1,7]	4,4* [3,3; 5,0]	4,6* [3,6; 6,0]	4,1* [3,7; 4,5]
Лимфоциты, %	74,0 [73; 75]	19,0* [17,0; 23,0]	25,0* [20,0; 30,0]	31,0* [30,0; 34,0]
Моноциты, %	5,0 [5,0; 6,0]	14,0* [10,0; 15,0]	13,0* [11,0; 15,0]	15,0* [13,0; 16,0]
Гранулоциты, %	21,0 [20,0; 21,0]	67,0* [55,0; 74,0]	62,0* [57,0; 68,0]	54,0* [50,0; 57,0]
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,5 [7,4; 7,7]	6,9 [6,5; 7,8]	7,5 [7,2; 8,1]	7,7 [7,3; 7,9]
Гемоглобин, г/л	154,0 [150,0; 160,0]	156,0 [147,0; 166,0]	153,0 [147,0; 166,0]	163,0 [155,0; 164,0]
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	519,0# [515,0; 592,0]	548,0# [506,0; 598,0]	511,0# [443,0; 586,0]	410,0 [335,0; 449,0]

Различия статистически значимы: * относительно контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса); # относительно группы № 3 ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса).

При сравнении концентраций натрия и ионизированного кальция в крови крыс экспериментальных групп статистически значимых различий выявлено не было, хотя в этих группах отмечены тренды, зависящие от применяемых доз дексаметазона. В группах № 2 и 3 (рис. 3) регистрировали более высокие показатели концентрации калия в сравнении с контрольной группой ($p = 0,002$; $p = 0,004$). Значения рН было статистически значимо выше в группе № 3 в сравнении с контрольной группой и группой № 2 ($p = 0,02$; $p = 0,04$). Статистически значимых различий между группами при сравнении показателей рСО₂, рО₂, ТСО₂, НСО₃, ВЕ, sO₂ венозной крови выявлено не было.

В сравнении со значениями в контрольной группе концентрация глюкозы в крови экспериментальных животных была статистически значимо выше ($p = 0,01$; $p = 0,0009$ и $p = 0,0002$ для № 1–3 соответственно), а степень увеличения показателя зависела от дозы дексаметазона. При анализе содержания общего белка показано, что у животных группы № 3 его концентрация была статистически значимо выше, чем у животных контрольной группы ($p = 0,01$), при этом уровень альбумина был увеличен во всех экспериментальных группах ($p = 0,02$; $p < 0,0001$; $p = 0,005$ для № 1–3). Активность КФК была ста-

тистически значимо более высокой у животных, которым вводили дексаметазон в дозах 1,71 и 8,00 мг/кг/сут (группы № 2 и 3) в сравнении с контрольной группой ($p = 0,006$, $p = 0,02$ соответственно) (рис. 4).

Концентрация РФМК в плазме крови у животных группы № 3 (доза дексаметазона 8 мг/кг/сут) была статистически значимо выше не только при сравнении с контрольной группой ($p < 0,0001$), но и при сравнении с группами № 1 и 2 ($p = 0,0084$; $p = 0,01$). Наблюдали статистически значимые различия в величине протромбинового времени при сравнении групп № 2 и 3 с контрольной группой: в этих группах показатель был статистически значимо меньше, чем в контрольной группе ($p = 0,03$; $p = 0,0009$). При анализе активности антитромбина выявлены статистически значимо более низкие значения данного параметра в группах № 2 и 3 ($p = 0,003$; $p = 0,0002$) в сравнении с группой контроля. Кроме этого, активность антитромбина была ниже в группе № 3 в сравнении с группой № 1 ($p = 0,02$). Концентрация фибриногена статистически значимо не различалась при сравнении данных в группах № 1–3 с группой контроля (рис. 5). Статистически значимых различий между группами при сравнении показателей АЧТВ венозной крови выявлено не было.

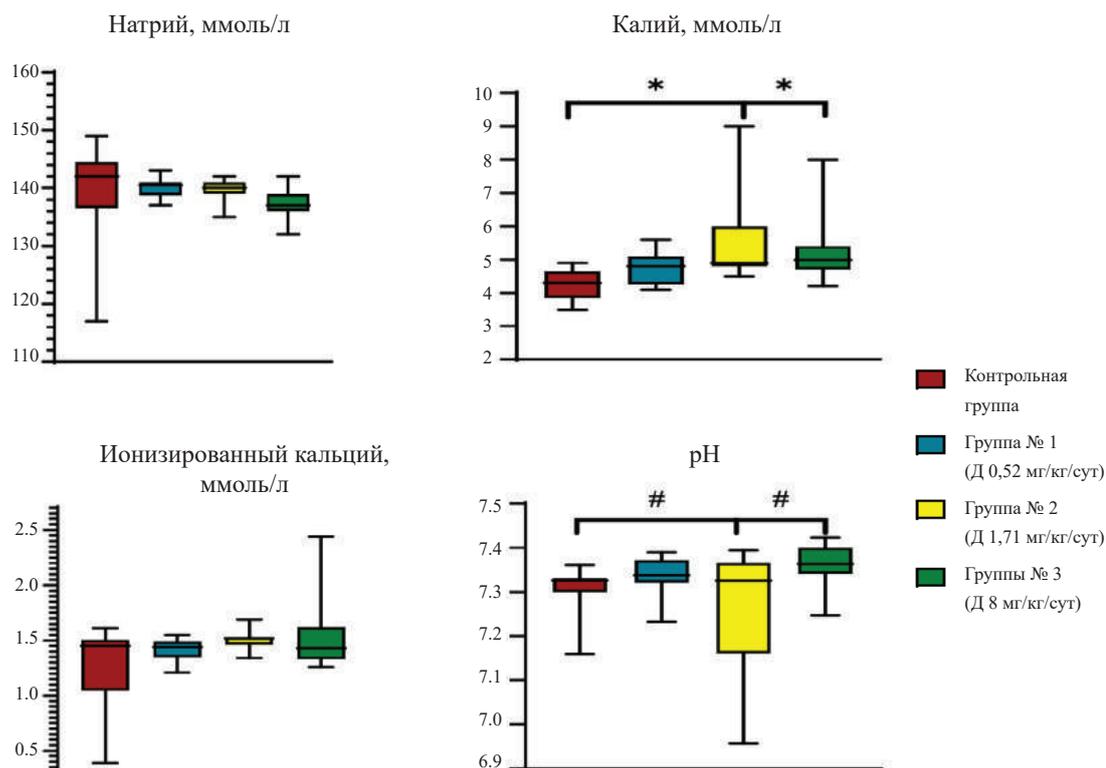


Рис. 3. Концентрация натрия, калия, ионизированного кальция и уровень рН венозной крови на 3-и сут после моделирования острого повреждения легких и лечения различными дозами дексаметазона, $Me [Q_1; Q_3]$. * различия статистически значимы относительно контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса)

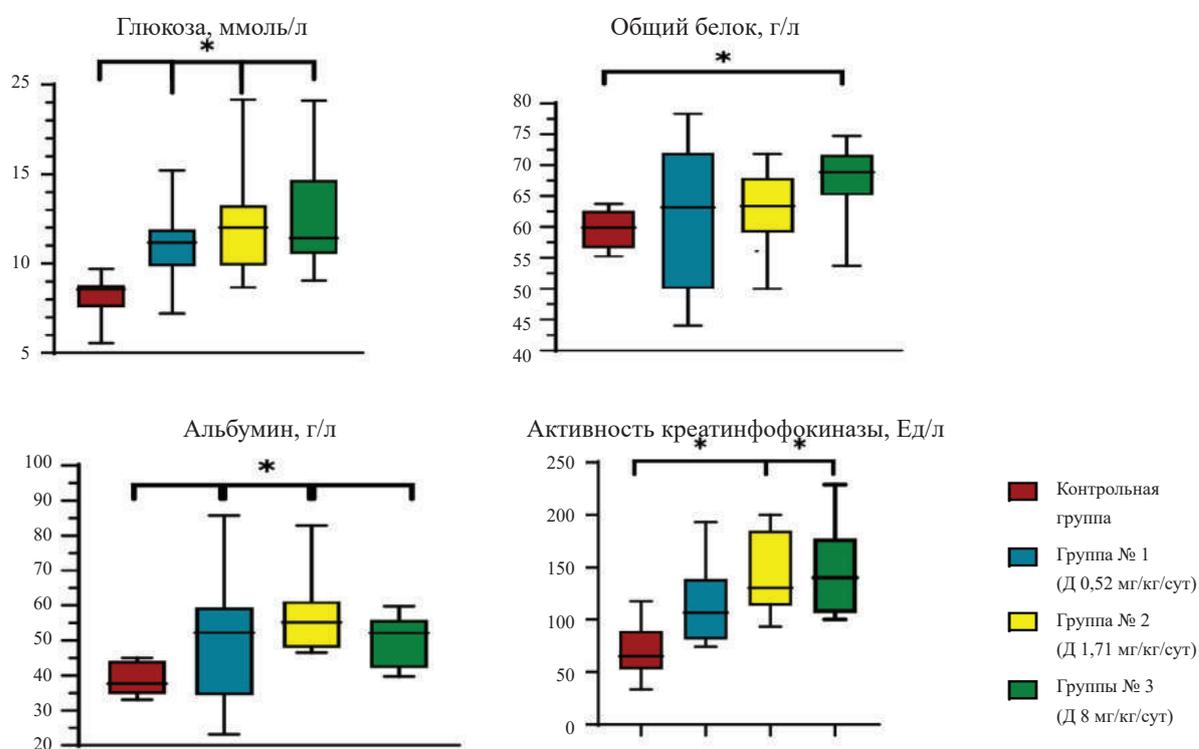


Рис. 4. Концентрация глюкозы, общего белка, альбумина и активность креатинфосфокиназы венозной крови на 3-и сут после моделирования острого повреждения легких и лечения различными дозами дексаметазона, $Me [Q_1; Q_3]$. Различия статистически значимы: * относительно контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса); # относительно группы 8 мг/кг/сут дексаметазона ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса)

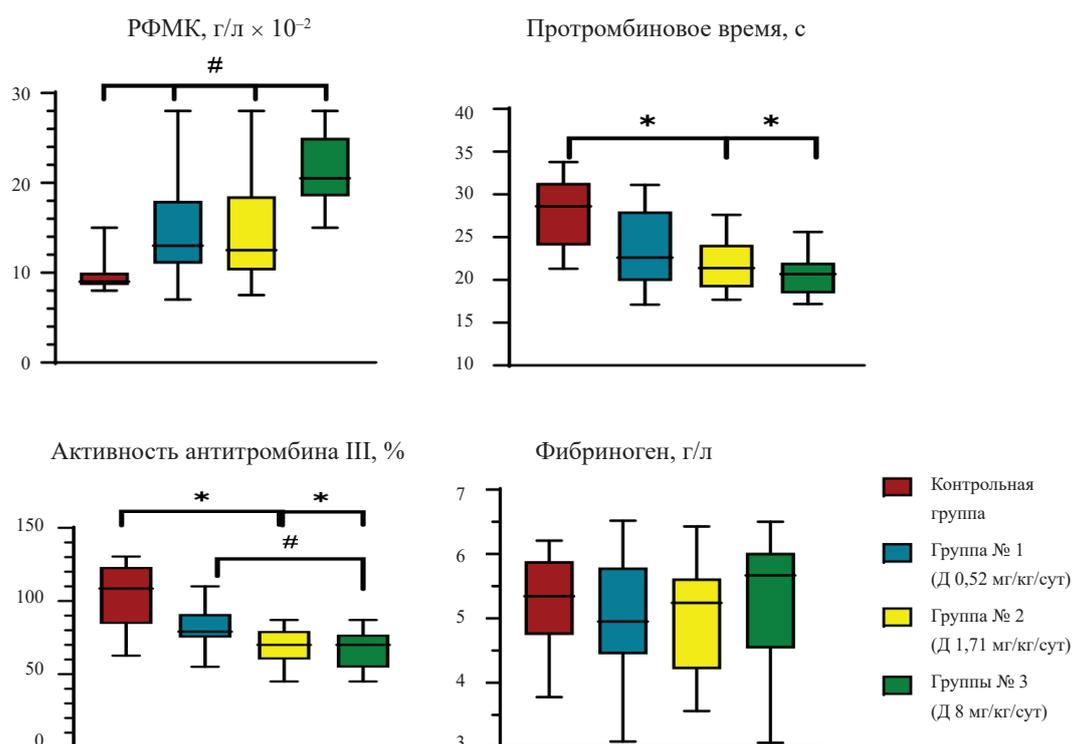


Рис. 5. Показатели свертывающей системы у крыс на 3-и сут после моделирования острого повреждения легких и лечения различными дозами дексаметазона, $Me [Q_1; Q_3]$). Различия статистически значимы: * относительно контрольной группы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса); # относительно группы № 3 ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса)

В ходе настоящего исследования показано, что после и/т введения ЛПС у крыс развивается двустороннее диффузное повреждение легких, приводящее к отеку с высокими показателями МКЛ и степенью влагонасыщения, а также гибели 40% животных в группе. Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований с использованием выбранной экспериментальной модели ОПЛ [2, 6, 10, 11].

Применение дексаметазона во всех исследованных дозах приводило к положительным лечебным эффектам: объем повреждения легочной ткани уменьшался, что сопровождалось коррекцией дыхательной недостаточности (нормопноэ, нормализация рН крови) и снижением летальности. В то же время развивались существенные нежелательные эффекты глюкокортикостероидной терапии, которые носили дозозависимый характер: гипергликемия, гиперпротеинемия, гиперальбуминемия, гиперкалиемия и повышение активности КФК в крови. Кроме того, были прослежены нарушения свертывающей системы крови: высокие значения РФМК в сочетании с низкими значениями протромбинового времени и низкой активностью антитромбина, что в комбинации с гиперпротеинемией усугубляло прогрессирующую на фоне воспаления гиперкоагуляцию. У крыс на

фоне терапии дексаметазоном определяли снижение количества лимфоцитов и тромбоцитов, а также повышение количества гранулоцитов и моноцитов в периферической крови.

В группе № 1, где применяли дексаметазон в дозе 0,52 мг/кг/сут, наблюдали самую низкую летальность среди всех групп и самые низкие значения МКЛ и степени влагонасыщения легких. Концентрация глюкозы была выше, чем в контрольной группе, но была минимальной среди всех групп сравнения. Несмотря на высокое количество РФМК, статистически значимого снижения протромбинового времени не наблюдали и активность антитромбина была максимальной среди всех групп, что может свидетельствовать о сбалансированном состоянии свертывающей и противосвертывающей систем, а также низком риске развития тромботических осложнений.

Группа № 2, где применяли дексаметазон в дозе 1,71 мг/кг/сут, показатель выживаемости был аналогичен группе № 1. При этом на фоне введения данной дозы дексаметазона выявляли самые высокие значения МКЛ, степени влагонасыщения и количества моноцитов в периферической крови среди всех экспериментальных групп, где применяли дексаметазон. В крови выявляли высокие значения концентрации глюкозы и калия, схожие с группой № 3. По

казатели РФМК были статистически значимо выше, а протромбиновое время и активность антитромбина ниже, чем в контрольной группе.

Самую высокую летальность животных наблюдали в группе № 3 (дексаметазон, 8,00 мг/кг/сут), несмотря на низкие значения МКЛ и степени влагонасыщения легких. Концентрация глюкозы, калия, общего белка, альбумина, активность КФК были максимальными в этой группе, а протромбиновое время самым коротким. Показатели, характеризующие свертывающую систему крови, свидетельствовали о наличии высокого риска тромбообразования: регистрировали максимальные значения РФМК, минимальные значения протромбинового времени и минимальную активность антитромбина. Низкое количество тромбоцитов на фоне выраженной гиперкоагуляции, вероятно, свидетельствовало о повышенном их потреблении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установлено, что эффективность как низких (0,52 мг/кг/сут), так и высоких (8,00 мг/кг/сут) доз дексаметазона на экспериментальной модели ЛПС-индуцированного ОПЛ характеризуется одинаковым противоэдematозным действием. По совокупности результатов лабораторных исследований крови и анализа выживаемости животных наиболее безопасным следует считать применение дексаметазона в минимальной дозе (0,52 мг/кг/сут). Режим введения дексаметазона в максимальной дозе (8,00 мг/кг/сут), эквивалентной пульс-терапии, несмотря на значительные противовоспалительные эффекты на уровне легочной ткани, отличался возникновением наиболее выраженных нежелательных явлений: гипергликемии, гиперпротеинемии, гиперкалиемии, гиперкоагуляции и повышения активности КФК. Выявленные побочные эффекты терапии дексаметазоном, вероятнее всего, внесли вклад в более высокую летальность у животных этой группы.

При назначении глюкокортикостероидной терапии, особенно высокими дозами, необходимо мониторировать уровень глюкозы, электролитов, состояние свертывающей системы крови, своевременно осуществлять коррекцию выявленных патологических изменений, так как данные изменения могут вносить существенный вклад в прогноз развития ОРДС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Минаков А.А., Салухов В.В., Харитонов М.А., Загородников Г.Г., Волошин Н.И. Некоторые особенности течения вирусной пневмонии при ожирении. *Медицинский совет*. 2022;16(18):131–140. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-18-131-140.
2. Matute-Bello G., Frevert C.W., Martin T.R. Animal models of acute lung injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2008Sept.;295(3):L379–L399. DOI: 10.1152/ajplung.00010.2008.
3. Mokra D., Mikolka P., Kosutova P., Mokry J. Corticosteroids in acute lung injury: the dilemma continues. *Int. J. Mol. Sci.* 2019Sept.25;20(19):4765. DOI: 10.3390/ijms20194765.
4. Yang J.W., Mao B., Tao R.J., Fan L.C., Lu H.W., Ge B.X. et al. Corticosteroids alleviate lipopolysaccharide-induced inflammation and lung injury via inhibiting NLRP3-inflammasome activation. *J. Cell Mol. Med.* 2020Nov.;24(21):12716–12725. DOI: 10.1111/jcmm.15849.
5. Qin M., Qiu Z. Changes in TNF- α , IL-6, IL-10 and VEGF in rats with ARDS and the effects of dexamethasone. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019Jan.;17(1):383–387. DOI: 10.3892/etm.2018.6926.
6. Yang J.W., Mao B., Tao R.J., Fan L.C., Lu H.W., Ge B.X. et al. Corticosteroids alleviate lipopolysaccharide-induced inflammation and lung injury via inhibiting NLRP3-inflammasome activation. *J. Cell Mol. Med.* 2020Nov.;24(21):12716–12725. DOI: 10.1111/jcmm.15849.
7. Kim S.M., Min J.H., Kim J.H., Choi J., Park J.M., Lee J. et al. Methyl p-hydroxycinnamate exerts anti-inflammatory effects in mouse models of lipopolysaccharide-induced ARDS. *Mol. Med. Rep.* 2022Jan.;25(1):37. DOI: 10.3892/mmr.2021.12553.
8. Al-Harbi N.O., Imam F., Al-Harbi M.M., Ansari M.A., Zohair K.M., Korashy H.M. et al. Dexamethasone attenuates LPS-induced acute lung injury through inhibition of NF- κ B, COX-2, and pro-inflammatory mediators. *Immunol. Invest.* 2016May;45(4):349–369. DOI: 10.3109/08820139.2016.1157814.
9. Шекунова Е.В., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(1):19–28. DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28.
10. Волошин Н.И., Пугач В.А., Тюнин М.А., Строкина Е.И., Хижа В.В., Николаев А.В., Салухов В.В. Клинико-биохимические и патоморфологические особенности прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида *Salmonella enterica*. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022;(3):16–23. DOI: 10.57034/2618723X-2022-03-02.
11. Пугач В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Левчук Е.В., Строкина Е.И., Ельцов А.А. Экспериментальная модель прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида *Salmonella enterica*. *Биомедицина*. 2021;17(3):84–89. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-84-89.

Вклад авторов

Салухов В.В., Тюнин М.А. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи. Волошин Н.И., Левчук Е.В., Минаков А.А. – проведение эксперимента, анализ и интерпретация данных. Волошин Н.И., Пугач В.А., Ильинский Н.С. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Волошин Никита Игоревич – адъюнкт, первая кафедра и клиника терапии усовершенствования врачей (ТУВ-1), ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, nikitavoloshin1990@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3880-9548>

Пугач Виктория Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniiivm_7@mil.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4290-350X>

Салухов Владимир Владимирович – д-р мед. наук, начальник, первая кафедра терапии усовершенствования врачей (ТУВ-1), ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, vlasaluk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1851-0941>

Тюнин Михаил Александрович – канд. мед. наук, зам. начальника центра, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniiivm_7@mil.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6974-5583>

Ильинский Никита Сергеевич – зам. начальника отдела, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniiivm_7@mil.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7406-753X>

Левчук Елена Владимировна – лаборант-исследователь, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniiivm_7@mil.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9086-3755>

Минаков Алексей Александрович – адъюнкт, первая кафедра и клиника терапии усовершенствования врачей (ТУВ-1), ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, minacom@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1525-3601>

(✉) **Волошин Никита Игоревич**, nikitavoloshin1990@gmail.com, juvtur1990@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.02.2023;
одобрена после рецензирования 13.03.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Прогнозирование «бедного ответа» в программах вспомогательных репродуктивных технологий после оперативных вмешательств на яичниках

Дмитриева М.Л., Петров И.А., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Дума О.М., Косимова З.О., Чернышова М.А., Юрьев С.Ю., Тимофеева О.С., Жданкина А.А., Герасимов А.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести сравнительный анализ клинико-анамнестических данных у женщин репродуктивного возраста с оперативными вмешательствами на яичниках и с оккультными признаками преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) для прогнозирования «бедного ответа» на стимуляцию.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование медицинских карт женщин (18–40 лет) с бесплодием Центра вспомогательных репродуктивных технологий Сибирского государственного медицинского университета с 2017 по 2020 г. Основная группа – 84 пациентки с оперативными вмешательствами на яичниках. Группа сравнения – 33 пациентки с биохимическими признаками ПНЯ (фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) 10–12 мМЕ/мл) без оперативного вмешательства на яичниках. Проводилось сравнение антимюллера гормона (АМГ), ФСГ, эстрадиола, количества антральных фолликулов (КАФ), ответ яичников на стимуляцию овуляции.

Результаты. Установлена корреляционная связь между КАФ и «бедным ответом» как в основной группе ($r = -0,7$; $p = 0,004$), так и в группе сравнения ($r = -0,620$; $p = 0,000$) у женщин младше 35 лет. Выявлена корреляционная связь между концентрацией эстрадиола и «бедным ответом» в группе сравнения у женщин старше 35 лет ($r = -0,707$; $p = 0,001$). Отрицательная зависимость средней силы между АМГ и «бедным ответом» выявлена только в основной группе в возрасте младше 35 лет ($r = -0,589$; $p = 0,021$). Средняя отрицательная связь между АМГ и «бедным ответом» выявлена в группе сравнения у женщин в возрасте младше 35 лет ($r = -0,648$; $p = 0,000$), слабая отрицательная взаимосвязь – в возрасте старше 35 лет ($r = -0,500$; $p = 0,004$). В обеих группах уровень ФСГ не предопределял ответ яичников на стимуляцию.

Заключение. Определение КАФ и АМГ являются более значимыми при прогнозировании «бедного ответа» у женщин как с оперированными яичниками, так и у женщин с оккультными признаками ПНЯ в возрасте младше 35 лет по сравнению с ФСГ. В группе с оккультными признаками ПНЯ у женщин старше 35 лет при прогнозировании «бедного ответа», вероятно, имеет значение концентрация эстрадиола, что требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: «бедный ответ» яичников, операции на яичниках, вспомогательные репродуктивные технологии, яичники, овариальный резерв

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

Источник финансирования. Проект поддержан конкурсной комиссией СибГМУ (протокол заседания от 27.06.2022) в соответствии с положением от 16.05.2022 № 51 «О поддержке научно-исследовательских проектов, выполняемых молодыми учеными “SibMed.Scholar”».

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 9308 от 15.12.2022).

Для цитирования: Дмитриева М.Л., Петров И.А., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Дума О.М., Косимова З.О., Чернышова М.А., Юрьев С.Ю., Тимофеева О.С., Жданкина А.А., Герасимов А.В. Прогнозирование «бедного ответа» в программах вспомогательных репродуктивных технологий после оперативных вмешательств на яичниках. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):31–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-31-38>.

Prediction of a poor ovarian response in assisted reproductive technology programs in patients after surgical interventions on the ovaries

Dmitrieva M.L., Petrov I.A., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Duma O.M., Kosimova Z.O., Chernyshova M.A., Yuriev S.Y., Timofeeva O.S., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim. To conduct a comparative analysis of clinical and anamnestic data in women of reproductive age after ovarian cyst surgery and with occult premature ovarian insufficiency (POI) to predict a poor ovarian response to stimulation.

Materials and methods. We conducted a retrospective study of medical records of women (aged 18–40 years) with infertility at the Assisted Reproductive Technology Center of Siberian State Medical University from 2017 to 2020. The main group consisted of 84 patients who underwent ovarian cyst surgery. The comparison group consisted of 33 patients with biochemical signs of POI (follicle stimulating hormone (FSH) 10–12 mMU / ml) who did not undergo ovarian cyst surgery. Anti-Mullerian hormone (AMH), FSH, estradiol, the antral follicle count (AFC), and the ovarian response to stimulation were compared.

Results. A correlation was established between AFC and a poor ovarian response both in the main group ($r = -0.7$; $p = 0.004$) and in the comparison group ($r = -0.620$; $p = 0.000$) in women under 35 years of age. A correlation was found between the concentration of estradiol and a poor ovarian response in the comparison group in women over 35 years of age ($r = -0.707$; $p = 0.001$). A moderate negative correlation between AMH and a poor ovarian response was revealed only in the main group of women under the age of 35 years ($r = -0.589$; $p = 0.021$). A moderate negative correlation between AMH and a poor ovarian response was revealed in the comparison group in women under the age of 35 years ($r = -0.648$; $p = 0.000$), a weak negative correlation was found for women at the age of 35 years ($r = -0.500$; $p = 0.004$). In both groups, the level of FSH did not determine the ovarian response to stimulation.

Conclusion. The determination of AFC and AMH is more significant in predicting a poor ovarian response in women after ovarian surgery and in women with occult signs of POI under the age of 35 years, compared with FSH. In the group of women over 35 years with occult signs of POI, the concentration of estradiol may matter in predicting a poor ovarian response, which requires further research.

Keywords: poor ovarian response, ovarian surgery, assisted reproductive technologies, ovaries, ovarian reserve

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

Source of funding. The study was supported by the SSMU Competition Commission (minutes of the meeting of 27.06.2022) in accordance with Regulation No. 51 of 16.05.2022 “On Supporting Research Projects carried out by Young Scientists “SibMed.Scholar”.

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 Siberian State Medical University (Protocol No. 9308 of 15.12.2022).

For citation: Dmitrieva M.L., Petrov I.A., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Duma O.M., Kosimova Z.O., Chernyshova M.A., Yuriev S.Y., Timofeeva O.S., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V. Prediction of a poor ovarian response in assisted reproductive technology programs in patients after surgical interventions on the ovaries. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):31–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-31-38>.

ВВЕДЕНИЕ

Прогнозирование исходов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) представляет интерес не только для репродуктологов, но и для самих женщин с бесплодием: точный прогноз повышает эффективность ВРТ и удовлетворяет ожидания пациентов. Для решения задачи целесообразно применение доступных для исследования клинико-лабораторных показателей, что не будет противоречить стандартам обследования пациенток.

«Бедный ответ» яичников, согласно Болонским критериям ESHRE, определенным в 2011 г., подразумевает неспособность яичников женщины реагировать на выбранную схему стимуляции. Для диагностики «бедного ответа» необходим хотя бы один проведенный цикл стимуляции овуляции и наличие двух из следующих трех признаков: возраст матери старше 40 лет или наличие факторов риска для «бедного ответа» яичников; менее трех яйцеклеток, полученных при проведении стандартного протокола стимуляции; аномальный тест овариального резерва (количество антральных фолликулов (КАФ) менее 5–7, антимюллеров гормон (АМГ) менее 0,7–1,1 нг/мл) [1]. Группу риска по развитию «бедного ответа» яичников составляют женщины с клиническими и анамнестическими признаками снижения овариального резерва: структурные хромосомные aberrации, мутации в генах, которые могут приводить к преждевременному истощению яичников, в том числе синдром Тернера и FMRI премутация [2]; воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, в том числе перенесенный хламидиоз [3, 4]; операции на яичниках по поводу кист яичников либо эндометриом [5, 6]; перенесенная химиотерапия [2, 7].

Таким образом, если факт оперативного вмешательства на яичниках уже предполагает «бедный ответ», то у пациенток на фоне формирования гипергонадотропного состояния прогнозирование «бедного ответа» яичников затруднено. Пациентки с бесплодием со «стареющими» яичниками, которые также иногда называют «надвигающейся недостаточностью яичников», составляют значительную часть из тех, кто обращается в центры ВРТ. Распространенность этой группы пациенток растет в связи с тем, что многие из них планируют отсроченное материнство в возрасте 30–40 лет, и более чем у половины этих пациенток невозможно точно определить причину [1].

Наряду с Болонскими критериями «бедного ответа» яичников 2011 г., репродуктологи применяют стратифицированную классификацию POSEIDON

2016 г., разработанную для пациентов с неблагоприятным прогнозом стимуляции овуляции. Данные литературы свидетельствуют о необходимости продолжения клинических исследований для подтверждения эффективности подходов ESHRE и POSEIDON с целью улучшения исходов ВРТ [8].

Цель нашего исследования – провести сравнительный анализ клинико-анамнестических данных у женщин репродуктивного возраста с оперативными вмешательствами на яичниках и с оккультными признаками преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) для прогнозирования «бедного ответа» на стимуляцию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное исследование женщин, находившихся на лечении по поводу бесплодия в центре ВРТ факультетских клиник Сибирского государственного медицинского университета с 2017 по 2020 г. Основную группу составили пациентки репродуктивного возраста с бесплодием, имеющие в анамнезе оперативные вмешательства на яичниках ($n = 84$). Основная группа была разделена на две подгруппы соответственно возрасту: подгруппа 1 – женщины младше 35 лет ($n = 51$), подгруппа 2 – женщины 35 лет и старше ($n = 33$). Группа сравнения – женщины репродуктивного возраста с бесплодием, имевшие концентрацию фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке крови перед проведением стимуляции овуляции 10–12 мМЕ/мл (что характерно для оккультных признаков ПНЯ) ($n = 33$) [9]. Группа сравнения была также разделена на две подгруппы: подгруппа 1 – женщины младше 35 лет ($n = 15$), подгруппа 2 – женщины 35 лет и старше ($n = 18$). Разделение групп по возрасту проведено согласно современным представлениям о гормональной функции яичников и сохранности овариального резерва, а также имеющейся классификации POSEIDON, оценивающей сниженный овариальный резерв [10].

Критерии включения в исследование: соматически здоровые женщины репродуктивного возраста (18–40 лет) с нормопролактинемией и эутиреозом. Критерии исключения: несоответствие критериям включения; обменно-эндокринная патология (сахарный диабет, ожирение любой степени); миома матки, требующая оперативного лечения; эндометриоз; предраковые и злокачественные заболевания; экстрагенитальная патология, сопровождающаяся иммунными и эндокринными расстройствами; наличие противопоказаний для проведения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) согласно приказу Минздрава России от 31.07.2020 № 8 03н «О порядке

использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

Женщины были обследованы в соответствии с клиническими рекомендациями «Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация» (письма Минздрава РФ от 5.03.2019 № 15-4/И/2-1908, 5.03.2019 № 15-4/и/2-1908) и стандартами обследования. При анализе данных учитывались результаты следующих методов исследования: 1) клинических: анализ медицинских карт, изучение данных анамнеза, жалоб и осмотра; 2) рутинных клинико-лабораторных; 3) инструментальных: ультразвуковое исследование органов малого таза (количество антральных фолликулов (КАФ)), данных лапароскопических/лапаротомных вмешательств в анамнезе; 4) определение концентрации в сыворотке крови: ФСГ, лютеинизирующего гормона (ЛГ), эстрадиола, антимюллерова гормона (АМГ); 5) количество фолликулов перед трансвагинальной пункцией, количество полученных ооцитов. Во всех случаях стимуляция суперовуляции в программе ЭКО проводилась в фиксированном протоколе с применением антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона с 6-х сут стимуляции.

Обработка полученных результатов выполнялась с помощью программы SPSS 26.0. Количественные данные представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_1-Q_3)$. Значимость различий

рассчитана непараметрическим методом для независимых выборок с помощью критерия Краскела – Уоллиса. Взаимосвязь между показателями изучали с помощью коэффициентов корреляции χ^2 Пирсона и Спирмена. При уровне значимости $p \leq 0,05$ различия считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинико-анамнестические показатели пациенток с бесплодием основной группы и в группе сравнения представлены в табл. 1. При анализе возраста, индекса массы тела (ИМТ), возраста менархе, наличия в анамнезе ЭКО между подгруппами групп статистически значимых различий не выявлено (критерий Краскела – Уоллиса; в группах статистически значимые межгрупповые различия учитывались при уровне $p < 0,05$).

Статистически значимые отличия выявлены в продолжительности бесплодия у женщин подгруппы 2 основной группы и подгруппы 2 группы сравнения, а также при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2 группы сравнения на фоне формирования гипергонадотропного состояния (табл. 1).

Средний возраст обследованных был сопоставим и составил 34 (32–36) года. Длительность бесплодия варьировала от 2 до 15 лет и составила 6 (4–10) лет и в целом была более продолжительной в группе сравнения, в частности у женщин подгруппы 2 (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика клинико-анамнестических данных обследованных групп, $Me (Q_1-Q_3)$								
Параметр	Основная группа		* p подгруппы основной группы	Группа сравнения		* p подгруппы группы сравнения	* p подгруппы 1 основной группы и группы сравнения	* p подгруппы 2 основной группы и группы сравнения
	подгруппа 1, $n = 51$	подгруппа 2, $n = 33$		подгруппа 1, $n = 15$	подгруппа 2, $n = 18$			
Возраст, лет	32,0 (29,0–34,0)	36,0 (35,0–37,0)	<0,001*	33,0 (32,0–34,0)	38,0 (36,0–39,0)	<0,001*	0,100	0,060
ИМТ, кг/м ²	23,4 (20,5–27,5)	25,8 (21,8–31,4)	0,092	23,8 (22,2–25,7)	21,1 (19,8–24,9)	0,190	0,789	0,060
Возраст менархе, лет	13,0 (12,0–14,0)	13,0 (12,0–14,0)	0,432	13,0 (12,0–14,0)	14,0 (13,0–14,0)	0,325	0,524	0,282
Длительность бесплодия, лет	6,0 (4,0–8,0)	6,0 (2,5–10,0)	0,928	4,0 (2,0–8,0)	10,5 (3,5–15,3)	0,008*	0,105	0,045*
ЭКО в анамнезе	1,0 (1,0–2,0)	1,0 (1,0–2,0)	0,742	2,0 (1,0–3,0)	1,5 (1,0–2,0)	0,656	0,462	0,957

Здесь и в табл. 2: * критерий Краскела – Уоллиса; различия в группах статистически значимы при уровне $p < 0,05$.

Оперативные вмешательства на яичниках, выявленные в анамнезе у пациенток основной группы, были проведены по следующим показаниям: апоплексия яичников – 39 случаев (46,45%), из них в 13 случаях (33,33%) выполняли ушивание поврежденной ткани яичника, а в 26 случаях (66,67%) – резекцию яичника; цистэктомия по поводу ослож-

ненного течения фолликулярной кисты яичника (кровоизлияние, разрыв) – 26 случаев (30,95%); цистэктомия яичника по поводу осложненного течения кисты желтого тела (кровоизлияние, разрыв) – 9 случаев (10,71%); цистомэктомия по поводу доброкачественных опухолей яичника была выполнена 10 случаев (11,9%) (серозная цистаденома (4), дермо-

идная киста (3), фиброма (3)). Повторные операции были у 4 женщин: 1 – фиброма яичника, 2 – осложненное течение фолликулярной кисты яичника, 1 – апоплексии яичников.

Таким образом, оперативное лечение было проведено преимущественно лапароскопическим доступом с применением органосберегающих технологий. При сравнительном анализе показаний к проведению операций на яичниках в подгруппах основной группы принципиальных отличий не выявлено.

Данные табл. 2 демонстрируют, что уровень ФСГ был предсказуемо выше у женщин старше

35 лет в обеих группах; выявлено значимое различие уровня эстрадиола у женщин старше 35 лет по сравнению с женщинами младше 35 лет в основной группе.

Кроме того, не было выявлено статистически значимых различий в сравнении КАФ ($p > 0,05$). Также не было статистически значимых различий в количестве полученных ооцитов ($p > 0,05$).

Всем пациенткам стимуляция суперовуляции в программе ЭКО проводилась в фиксированном протоколе с применением антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона с 6-х сут.

Таблица 2

Характеристика гормонального статуса и количество антральных фолликулов обследованных женщин с бесплодием до начала овариальной стимуляции в программах ЭКО, Me (Q_1-Q_3)

Параметр	Основная группа		p^*	Группа сравнения		p^*	*p подгруппы 1 основной группы и группы сравнения	*p подгруппы 2 основ- ной группы и группы сравнения
	подгруппа 1, $n = 51$	подгруппа 2, $n = 33$		подгруппа 1, $n = 15$	подгруппа 2, $n = 18$			
ФСГ, мМЕ/мл	6,7 (5,8–8,9)	8,5 (6,7–12,2)	0,039*	10,4 (10,1–10,9)	11,1 (10,3–11,6)	0,100	<0,001*	0,004*
ЛГ, мМЕ/мл	5,1 (3,6–6,9)	4,7 (3,2–6,4)	0,166	5,4 (4,6–8,0)	5,9 (4,7–8,3)	0,708	0,375	0,013*
Эстрадиол, пмоль/л	80,0 (36,7–164,8)	221,0 (105,0–351,0)	<0,001*	108,0 (67,1–179,1)	138,4 (65,9–226,0)	0,911	0,163	0,067
АМГ, нг/мл	1,47 (0,66–3,82)	1,34 (0,57–2,22)	0,463	0,69 (0,46–4,73)	1,3 (0,66–1,79)	0,762	0,447	0,754
КАФ	9,5 (4,0–14,0)	7,0 (3,5–13,5)	0,637	9,0 (4,8–14,0)	6,0 (5,0–15,0)	0,866	0,851	0,600
Ооциты	5,0 (2,0–9,5)	4,0 (2,0–8,5)	0,761	3,0 (1,0–10,0)	3,0 (2,0–5,0)	0,735	0,708	0,225

В основной группе «бедный ответ» составил 39,3% и распределялся следующим образом: в подгруппе 1 в 40,8% случаев, в подгруппе 2 в 39,4% случаев ($p = 0,465$; $\chi^2 = 0,533$). В группе сравнения «бедный ответ» составил 57,6%. В возрасте младше 35 лет «бедный ответ» яичников на стимуляцию встречался в 53,3% случаев, в возрасте старше 35 лет – в 58,8% случаев ($p = 0,782$; $\chi^2 = 0,077$). В подгруппе 2 основной группы «бедный ответ» яичников на стимуляцию встречался реже, чем в подгруппе 2 группы сравнения ($p = 0,000$; $\chi^2 = 0,486$).

Дальнейший корреляционный анализ выявил явление, не описанное другими исследователями, – средней силы отрицательную линейную зависимость между КАФ и «бедным ответом» у женщин младше 35 лет основной группы ($r = -0,7$; $p = 0,004$) и в группе сравнения ($r = -0,620$; $p = 0,001$), при этом подобной корреляции не было выявлено в основной группе у женщин старше 35 лет ($r = -0,034$; $p = 0,894$). Тогда как в группе сравнения у женщин старше 35 лет выявлена лишь слабая отрицательная линейная зависимость ($r = -0,372$; $p = 0,033$). Данный факт можно расценивать как возможность оценки пред-

полагаемого ответа на стимуляцию с учетом КАФ только в возрастной группе младше 35 лет.

Корреляции между концентрацией ФСГ и «бедным ответом» яичников в подгруппах основной группы не выявлено ($r = 0,295$; $p = 0,042$; $r = 0,072$, $p = 0,692$), так же, как и в подгруппах группы сравнения ($r = 0,124$; $p = 0,659$; $r = 0,363$; $p = 0,139$).

Поиск связей между «бедным ответом» яичников на стимуляцию и значением концентрацией АМГ выявил, что в основной группе у женщин в возрасте младше 35 лет определяется средняя отрицательная связь ($r = -0,648$; $p = 0,000$), у женщин старше 35 лет – слабая отрицательная взаимосвязь ($r = -0,500$; $p = 0,004$). В группе сравнения у женщин младше 35 лет выявлена слабой силы отрицательная связь ($r = -0,589$; $p = 0,021$) между «бедным ответом» яичников на стимуляцию и значением концентрации АМГ, при этом у женщин в возрасте старше 35 лет корреляционной связи не выявлено ($r = 0,154$; $p = 0,542$).

Интерес представляет выявленная корреляционная связь между концентрацией эстрадиола в сыворотке крови и «бедным ответом» яичников у паци-

ентов группы сравнения старше 35 лет ($r = -0,707$; $p = 0,001$). Однако в других подгруппах данной связи не выявлено ($p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В литературном обзоре Q.H.Y. Wong и R.A. Anderson (2018) приведены исследования по оценке динамики изменения маркера овариального резерва АМГ до и после хирургического лечения заболеваний гонад [11]. После цистэктомии отмечают снижение овариального резерва, что в первую очередь сопровождается уменьшением концентрации АМГ [12, 13]. Предполагаемый механизм повреждения яичников во время оперативного вмешательства, который ведет к снижению овариального резерва, заключается в основном из-за контактного повреждения овариальной ткани с использованием хирургической энергии [14]. Два систематических обзора и метаанализ продемонстрировали, что использование биполярной электрокоагуляции связано с большим снижением уровня АМГ по сравнению с нетепловыми методами гемостаза, включая наложение швов или кровоостанавливающего средства [15, 16].

Интересен факт, что в большинстве исследований не установлена связь между снижением концентрации АМГ и размером ретенционного образования [17–20]. Однако отмечено, что у пациенток с фолликулярными и эндометриоидными кистами имеется значительное снижение уровня АМГ через 6 мес после оперативного лечения. Также в исследованиях выявлено, что после хирургического лечения дермоидных кист и истинных опухолей яичников (в том числе серозных) не происходит значительного изменения концентрации АМГ [21].

По данным проведенного ретроспективного исследования, в основной группе «бедный ответ» составил 39,3%, а в группе сравнения – 57,6%. Однако при разделении групп, согласно Болонским критериям и POSEIDON, статистической значимости не выявлено. В нашем исследовании при стратификации групп, согласно классификации POSEIDON, выявлено, что у женщин моложе 35 лет с оперированными яичниками риск «бедного ответа» выше по сравнению с женщинами старше 35 лет, что подтверждают полученные нами корреляционные связи.

Так, для основной группы и группы сравнения была установлена корреляционная связь между КАФ и «бедным ответом» у женщин младше 35 лет. Также была установлена корреляционная связь в основной группе между концентрацией АМГ и «бедным ответом» яичников у женщин младше 35 лет, что не было выявлено для пациенток в возрасте старше 35 лет. В группе сравнения лишь у

женщин в возрасте младше 35 лет определена средней силы отрицательная связь между показателями АМГ и «бедным ответом» яичников, тогда как для подгруппы женщин в возрасте старше 35 лет выявлена связь только слабой силы.

В настоящей работе показано, что концентрация ФСГ не коррелировала с наступлением «бедного ответа» яичников в ответ на стимуляцию в программах ВРТ у женщин с перенесенными оперативными вмешательствами на яичниках, что не согласуется с приведенными данными в литературе. Так, в исследовании S. Salama и соавт. (2021) обнаружено, что у женщин моложе 35 лет базальный уровень ФСГ в большей степени коррелирует с количеством фолликулов и количеством извлеченных ооцитов, что, в свою очередь, отражается на частоте наступления беременности [22]. G. Sahin и соавт. (2021) получили данные, что при концентрации ФСГ ≥ 10 МЕ/л у женщин наблюдают более высокую частоту наступления беременности и живорождения в молодом возрасте несмотря на высокие уровни ФСГ [23].

Перспективным для дальнейших исследований в области прогнозирования «бедного ответа» яичников может стать концентрация эстрадиола, которая также имеет корреляционную связь при анализе данных группы сравнения женщин с бесплодием и потенциальным гипергонадотропным состоянием в возрасте старше 35 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно полученным результатам, КАФ и АМГ были значимыми для женщин младше 35 лет в обеих группах исследования. Уровень ФСГ не является основным предиктором «бедного ответа». В группе женщин старше 35 лет с потенциальным гипергонадотропным состоянием в качестве предиктора «бедного ответа» может выступать уровень эстрадиола. Необходимы дальнейшие клинические исследования с увеличением объема выборки для установления значимости известных и потенциальных маркеров «бедного ответа» у женщин с оперированными яичниками и со скрытыми признаками преждевременной овариальной недостаточности, что даст возможность создать прогностическую математическую модель методом логистической регрессии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C.J.M., Tarlatzis B., Nargund G., Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: the Bologna criteria. *Hum. Reprod.* 2011;26(7):1616–1624. DOI: 10.1093/humrep/der092.

2. De Vos M., Devroey P., Fauser B.C.J.M. Primary ovarian insufficiency. *Lancet*. 2010;76(9744):911–921. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60355-8.
3. Molloy D., Martin M., Speirs A., Lopata A., Clarke G., McBain J., Ngu A., Johnston I. H. Performance of patients with a “frozen pelvis” in an in vitro fertilization program. *Fertil. Steril.* 1987;47(3):450–455. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)59054-2.
4. Keay S.D., Barlow R., Eley A., Anthony F.W., Masson G.M. and Jenkins J.M. The relation between IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis* and poor ovarian response to gonadotrophin stimulation before *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril.* 1998;70:214–218. DOI: 10.1016/s0015-0282(98)00145-9.
5. Garcia-Velasco J.A., Somigliana E. Management of endometriomas in women requiring IVF: to touch or not to touch. *Hum. Reprod.* 2009;24(3):496–501. DOI: 10.1093/humrep/den398.
6. Nargund G., Cheng W.C., Parsons J. The impact of ovarian cystectomy on ovarian response to stimulation during *in vitro* fertilization cycles. *Fertil. Steril.* 1996;11(1):81–83. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019043.
7. Oktem O., Oktay K. A novel ovarian xenografting model to characterize the impact of chemotherapy agents on human primordial follicle reserve. *Cancer Res.* 2007;67(21):10159–10162. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2042.
8. Grisendi V., Mastellari E., La Marca A. Ovarian reserve markers to identify poor responders in the context of poseidon classification. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2019;10:281. DOI: 10.3389/fendo.2019.00281.
9. Welt C.K. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clinical Endocrinology*. 2007;68(4):499–509. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.03073.x.
10. Blumenfeld Z. What is the best regimen for ovarian stimulation of poor responders in ART/IVF? *Front. Endocrinol.* 2020;11:192. DOI: 10.3389/fendo.2020.00192.
11. Wong Q.H.Y., Anderson R.A. The role of antimullerian hormone in assessing ovarian damage from chemotherapy, radiotherapy and surgery. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2018;25(6):391–398. DOI: 10.1097/MED.0000000000000447.
12. Chang H.J., Han S.H., Lee J.R., Jee B.C., Lee B.I., Suh C.S. et al. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Mullerian hormone levels. *Fertil. Steril.* 2010;94(1):343–349. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.022.
13. Ozaki R., Kumakiri J., Tinelli A., Grimbizis G.F., Kitade M., Takeda S. Evaluation of factors predicting diminished ovarian reserve before and after laparoscopic cystectomy for ovarian endometriomas: a prospective cohort study. *J. Ovarian. Res.* 2016;9(1):37. DOI: 10.1186/s13048-016-0241-z.
14. Alborzi S., Foroughinia L., Kumar P.V., Asadi N., Alborzi S. A comparison of histopathologic findings of ovarian tissue inadvertently excised with endometrioma and other kinds of benign ovarian cyst in patients undergoing laparoscopy versus laparotomy. *Fertil. Steril.* 2009;92(6):2004–2007. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.09.014.
15. Ata B., Turkgeldi E., Seyhan A., Urman B. Effect of hemostatic method on ovarian reserve following laparoscopic endometrioma excision; comparison of suture, hemostatic sealant, and bipolar desiccation. A systematic review and meta-analysis. *J. Minim. Invasive Gynecol.* 2015;22(3):363–372. DOI: 10.1016/j.jmig.2014.12.168.
16. Deckers P., Ribeiro S.C., Simoes R.D.S., Miyahara C.B. da F., Baracat E.C. Systematic review and metaanalysis of the effect of bipolar electrocoagulation during laparoscopic ovarian endometrioma stripping on ovarian reserve. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2018;140(1):11–17. DOI: 10.1002/ijgo.12338.
17. Alborzi S., Keramati P., Younesi M., Samsami A., Dadras N. The impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve in patients with unilateral and bilateral endometriomas. *Fertil. Steril.* 2014;101(2):427–434. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.019.
18. Hirokawa W., Iwase A., Goto M., Takikawa S., Nagatomo Y., Nakahara T. et al. The postoperative decline in serum antiMullerian hormone correlates with the bilaterality and severity of endometriosis. *Hum. Reprod.* 2011;26(4):904–910. DOI: 10.1093/humrep/der006.
19. Celik H.G., Dogan E., Okyay E., Ulukus C., Saatli B., Uysal S. et al. Effect of laparoscopic excision of endometriomas on ovarian reserve: serial changes in the serum antimullerian hormone levels. *Fertil. Steril.* 2012;97(6):1472–1478. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.027.
20. Uncu G., Kasapoglu I., Ozerkan K., Seyhan A., Yilmaztepe A.O., Ata B. Prospective assessment of the impact of endometriomas and their removal on ovarian reserve and determinants of the rate of decline in ovarian reserve. *Hum. Reprod.* 2013;28(8):2140–2145. DOI: 10.1093/humrep/det123.
21. Подзолкова Н.М., Шамугия Н.Л., Осадчев В.Б., Бабков К.В., Сафонова Н.Е., Борисова М.С. Отдаленные результаты органосохраняющего лечения доброкачественных новообразований яичников у женщин репродуктивного возраста. *Проблемы репродукции*. 2021;27(5):84–91. DOI: 10.17116/repro20212705184.
22. Salama S., Sharaf M., Salem S.M., Rasheed M.A., Salama E., Elnahas T. et al. FSH versus AMH: age-related relevance to ICSI results. *Middle East Fertil. Soc. J.* 2021;26(1):27. DOI: 10.1186/s43043-021-00071-6.
23. Sahin G., Akdogan A., Aydın M.H., Tekindal M.A., Göker E.N.T., Tavmergen E. *In vitro* fertilization outcome predictors in women with high baseline follicle-stimulating hormone levels: analysis of over 1,000 cycles from a tertiary center. *JBRA Assist. Reprod.* 2021;25(2):235–241. DOI: 10.5935/1518-0557.20200088.

Вклад авторов

Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Петров И.А. – концепция и дизайн исследования. Дмитриева М.Л., Чернышова М.А., Дума О.М., Косимова З.О., Тимофеева О.С., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Юрьев С.Ю. – сбор и обработка материала. Дмитриева М.Л., Петров И.А., Жданкина А.А., Герасимов А.В. – статистический анализ данных. Дмитриева М.Л., Петров И.А., Тихонов-

ская О.А., Логвинов С.В., Чернышова М.А., Юрьев С.Ю. – написание текста. Тихоновская О.А., Логвинов С.В. – редактирование рукописи статьи.

Информация об авторах

Дмитриева Маргарита Леонидовна – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, dmitrieva.ml@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2958-9424>

Петров Илья Алексеевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, obgynsib@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0697-3896>

Тихоновская Ольга Анатольевна – профессор, д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, tikhonovskaya2012@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4309-5831>

Логвинов Сергей Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, s_logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

Дума Ольга Максимовна – ординатор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, olga.duma24@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4110-1305>

Косимова Зухра Олимжоновна – ординатор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ г. Томск, zuxrakosimova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7491-6810>

Чернышова Милена Алексеевна – студентка, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, anelim-23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1252-7817>

Юрьев Сергей Юрьевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, sergeiyuriev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1343-5471>

Тимофеева Оксана Сергеевна – ассистент, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, oks91@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5768-4031>

Жданкина Анна Александровна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, annazhdank@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4954-7416>

Герасимов Александр Владимирович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, av-gerasimov62@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

(✉) **Дмитриева Маргарита Леонидовна**, dmitrieva.ml@ssmu.ru

Поступила в редакцию 09.01.2023;
одобрена после рецензирования 17.04.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Исследование ранозаживляющих свойств комплексов цинка с гуминовыми веществами в эксперименте *in vivo* на модели асептической раны

Зыкова М.В.¹, Иванов В.В.¹, Ларионов К.С.², Азаркина Л.А.¹, Буйко Е.Е.¹,
Братишко К.А.¹, Уфандеев А.А.¹, Рабцевич Е.С.^{1,3}, Михалев Д.А.¹, Копнов И.С.¹,
Перминова И.В.², Белоусов М.В.¹

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

² Московский государственный университет (МГУ) им. М.В. Ломоносова
Россия, 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

РЕЗЮМЕ

Цель – исследовать ранозаживляющие свойства цинксодержащих биоконпозиций на основе гуминовых лигандов (ГВ-Zn) в эксперименте *in vivo* на модели асептической раны и оценить их резорбтивные свойства.

Материалы и методы. Объекты исследования – пять образцов ГВ-Zn в форме комплексных солей, синтезированные в лаборатории природных гуминовых систем химического факультета МГУ, представляющие собой мелкодисперсные порошки черного цвета. Ранозаживляющее действие исследуемых веществ было изучено на 70 самцах крыс линии Wistar с использованием травматической модели плоскостной асептической кожной раны. Степень заживления пораженного участка кожи оценивали в течение 21 сут планиметрическим методом. Изучение резорбтивных свойств образцов ГВ-Zn проводилось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в биоматериале (сыворотка крови, шерсть, кожа с раневой поверхностью).

Результаты. Установлено, что курсовое нанесение на раневую поверхность цинксодержащих биоконпозиций ГВ-Zn приводит к уменьшению площади раны в сравнении с площадью раны при нанесении ZnSO₄ с эквивалентной концентрацией элементарного Zn (1,67 мг/мл). Наиболее выраженный регенерирующий эффект проявили два образца: FA-Zn и Peat1-Zn. Отмечено увеличение уровня Zn в опытных участках кожи раневой поверхности, в шерсти и сыворотке крови, что указывает на резорбтивное действие цинксодержащих биоконпозиций ГВ-Zn при их курсовом применении, но показатели не превышали уровня допустимых предельных концентраций. Также отмечена неодинаковая зависимость между тестируемыми образцами, что свидетельствует о значительном влиянии исходной матрицы ГВ на биодоступность Zn.

Заключение. Обнаруженный репаративный эффект композиций цинка и гуминовых лигандов на фоне их низкой токсичности представляет интерес для дальнейшего изучения с целью разработки на их основе эффективных ранозаживляющих препаратов.

Ключевые слова: цинк, гуминовые вещества, лиганды, ранозаживление

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

✉ Азаркина Людмила Анатольевна, ludmila_logvinova@mail.ru

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, гранты № 20-65-47052 (исследования биологической активности и резорбтивного действия) и № 20-63-47070 (синтез цинксодержащих биоконпозиций на основе гуминовых лигандов).

Для цитирования: Зыкова М.В., Иванов В.В., Ларионов К.С., Азаркина Л.А., Буйко Е.Е., Братишко К.А., Уфандеев А.А., Рабцевич Е.С., Михалев Д.А., Копнов И.С., Перминова И.В., Белоусов М.В. Исследование ранозаживляющих свойств комплексов цинка с гуминовыми веществами в эксперименте *in vivo* на модели асептической раны. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):39–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-39-47>.

Study of wound-healing properties of humic substance – zinc complexes in the aseptic wound model *in vivo*

Zykova M.V.¹, Ivanov V.V.¹, Larionov K.S.², Azarkina L.A.¹, Buyko E.E.¹, Bratishko K.A.¹, Ufandeev A.A.¹, Rabtsevich E.S.^{1,3}, Mikhalev D.A.¹, Kopnov I.S.¹, Perminova I.V.², Belousov M.V.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University
1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

³ National Research Tomsk State University
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim was to investigate wound-healing properties of zinc-containing biocomposites based on humic ligands (humic substance (HS) – Zn) in the *in vivo* experiment on the aseptic wound model and to evaluate their resorptive properties.

Materials and methods. The objects of the study were 5 samples of HS-Zn in the form of complex salts comprising fine black powders synthesized in the Laboratory for Natural Humic Systems of the Faculty of Chemistry at Moscow State University. The wound-healing effect of the substances was studied on 70 male Wistar rats using a traumatic model of an excisional aseptic skin wound. The degree of affected skin healing was evaluated during 21 days by the planimetric method. The resorptive properties of the HS-Zn samples were studied by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in the biomaterial (blood serum, fur, skin from the wound surface).

Results. It was found that course application of zinc-containing HS-Zn biocomposites to the wound surface led to a decrease in the wound area in comparison with ZnSO₄ with the equivalent concentration of elemental Zn (1.67 mg / ml). Two samples FA-Zn and Peat1-Zn showed the most pronounced regenerating effect. We noted an increase in Zn level in the tested skin samples from the wound area, in fur, and in the blood serum, which indicates the resorptive effect of zinc-containing HS-Zn biocomposites during course application; however, the parameters did not exceed limiting permissible concentrations. The correlation between the tested samples was not equal, which indicates a significant impact of the initial HS matrix on the Zn bioavailability.

Conclusion. The observed reparative effect of zinc and HS complexes in the context of their low toxicity is of interest for further study to develop effective wound-healing preparations.

Keywords: zinc, humic substances, ligands, wound healing

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

Source of financing. The work was financially supported by the Russian Science Foundation, grants No. 20-65-47052 (research on biological activity and resorption) and No. 20-63-47070 (synthesis of zinc-containing biocomposites based on humic ligands).

For citation: Zykova M.V., Ivanov V.V., Larionov K.S., Azarkina L.A., Buyko E.E., Bratishko K.A., Ufandeev A.A., Rabtsevich E.S., Mikhalev D.A., Kopnov I.S., Perminova I.V., Belousov M.V. Study of wound-healing properties of humic substance – zinc complexes in the aseptic wound model *in vivo*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):39–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-39-47>.

ВВЕДЕНИЕ

Приоритетной и актуальной проблемой для современной медицины, несмотря на внедрение самых передовых достижений в области высоких технологий, является травматизм, в частности ранения различной этиологии. Высокая вероятность получения асептических, инфицированных и гнойных поражений мягких тканей наблюдается в бытовых и производственных условиях, при возникновении и ликвидации последствий природных и техногенных катастроф [1]. Более того, обострению проблемы способствуют снижение активности естественных резистентных систем организма, стремительное изменение морфологической организации микрофлоры в раневом участке [1–3]. В результате наступает временная или пожизненная нетрудоспособность, значительно сокращаются производственные силы, наблюдается кратное увеличение государственных затрат [4]. Ввиду этого поиск веществ, оказывающих позитивное влияние на основные стадии репарационного процесса и отличающихся большей доступностью в сравнении с аппаратными способами, является актуальной задачей.

Благодаря успехам молекулярной биологии, медицинской элементарологии и ряду других естественно-научных направлений удалось доказать, что нормальное протекание заживления ран невозможно без участия биометаллов, в частности цинка (Zn) [5–7]. Цинк выполняет роль кофактора более чем в 300 матриксных металлопротеиназах, которые за счет как непосредственного ингибирования/активации ферментов, так и влияния на экспрессию генов оказывают противовоспалительное, антиоксидантное действие, обладают иммуномодулирующим, антибактериальным эффектом, индуцируют пролиферацию и дифференцировку кератиноцитов [6–8]. На сегодняшний день в виде оксида, в виде солей (сульфата, ацетата, глюконата и др.) цинк входит в состав ряда лекарственных препаратов для местного применения в целях лечения ран, опрелостей, дерматологических дефектов [6, 9–11].

Известно, что ионная форма Zn^{2+} обладает низкой биодоступностью, ввиду чего для локального достижения оптимальной концентрации необходим длительный прием, сопряженный с развитием как местных, так и системных побочных эффектов [5, 12]. Но в последнее время стало возможным одновременно

снизить токсичность и повысить биологическую активность, а иногда и достичь появления у Zn (а также у ряда других металлов) и его производных новых видов фармакологического действия, отсутствующего у ионной формы, благодаря образованию комплексов, лигандами которых являются полимеры [3, 5, 13, 14].

В качестве перспективных высокомолекулярных соединений выступают гуминовые вещества (ГВ) – продукты преобразования растительной материи под действием биотических и абиотических факторов. Имея в структуре большое разнообразие кислород- и азотсодержащих функциональных групп, ГВ могут взаимодействовать с различными соединениями живых клеток, образуя с ними связи по обменному, донорно-акцепторному и другим механизмам. В результате становится возможным влиять на активность клеток многих органов и систем и тем самым реализовывать плейотропную биологическую активность: иммуномодулирующую, противовоспалительную, антиоксидантную, антигипоксантную и др.

Влияние ГВ на клетки иммунной системы – одно из самых изученных видов их активности. Доказано, что они повышают гуморальный иммунный ответ у мышей, усиливают синтез фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина (ИЛ)-1 β , ИЛ-12 перитонеальными макрофагами животных и продукцию гамма-интерферона, ФНО- α мононуклеарами периферической крови здоровых доноров [15]. Ввиду наличия у Zn и ГВ общего вида фармакологического действия, но разного механизма его реализации, можно предположить, что создание комплексного координационного соединения цинка, содержащего в качестве лиганда ГВ, позволит достичь синергизма, благодаря которому будет возможно более экспрессное, не сопровождающееся развитием осложнений заживление ран. Поэтому цель настоящей работы – исследовать ранозаживляющие свойства цинксодержащих биокомпозиций на основе гуминовых лигандов (ГВ-Zn) в эксперименте *in vivo* на модели асептической раны и оценить их резорбтивные свойства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны пять образцов цинксодержащих биокомпозиций на основе гуминовых лигандов (ГВ-Zn), синтезированных

ные в лаборатории природных гуминовых систем химического факультета МГУ, характеристика которых представлена в табл. 1. Для синтеза образцов ГВ-Zn был приготовлен раствор ГВ с концентрацией 15 г/л, его центрифугировали при 5 000 об/мин для отделения балласта. Далее этот раствор смешивался с приготовленным раствором нитрата цинка с концентрацией 4,84 г/л в соотношении 1 : 5 ($Zn(NO_3)_2$: гумат). Концентрация гуматов в растворе была пересчитана с учетом массы отделенного балласта для сохране-

ния равных соотношений гумата к нитрату цинка. Синтез проводили в течение 4 ч без нагревания при поддержании pH = 9 с помощью гидроксида натрия. Затем образцы были лиофильно высушены. Для этого их замораживали до температуры $-50\text{ }^\circ\text{C}$ и помещали в систему лиофильного высушивания образцов Scientz-18ND Top Press multi-manifolds. Высушивание проводилось во внешних колбах в течение 2 сут. Образцы ГВ-Zn представляют собой комплексные соли, мелкодисперсные порошки черного цвета.

Таблица 1

Экспериментальные образцы цинксодержащих биокомпозиций на основе гуминовых лигандов (ГВ-Zn)		
Шифр образца ГВ (базового лиганда)	Описание образцов ГВ	Шифр образца ГВ-Zn
СНР	Гуминовые кислоты угля Powhumus («Гуминтех», Германия)	СНР-Zn
FA	Фульвокислоты торфа Fulvagra («Гуминтех», Германия)	FA-Zn
СНС	Гуминовые вещества угля («Сахалинские гуматы», Россия)	СНС-Zn
Peat1	Гуминовые кислоты верхового ангустифолиум-торфа (Томск, Россия)	Peat1-Zn
Peat2	Гуминовые кислоты верхового сфагново-мочажинного торфа (Томск, Россия)	Peat2-Zn

Ранозаживляющее действие исследуемых веществ было изучено на 70 самцах крыс линии Wistar массой 250–300 г. Все манипуляции и эвтаназию осуществляли с обязательным соблюдением правил Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Содержание животных и дизайн эксперимента соответствовали этическим нормам и принципам биомедицинских исследований и одобрены комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных ((Комиссия IACUC ЦДИ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заключение № 02/21 от 02.02.2021)).

Перед началом эксперимента случайным образом животные были распределены на 7 групп ($n = 10$): группа 1 – интактные, в раны вводили физиологический раствор (ФЗ); группа 2 – контроль, раны обрабатывали препаратом сравнения – раствором $ZnSO_4$; группа 3 – обработку раневой поверхности осуществляли раствором СНР-Zn; группа 4 – FA-Zn; группа 5 – СНС-Zn; группа 6 – Peat1-Zn и группа 7 – Peat2-Zn. Для воспроизведения травматической модели плоскостной кожной раны у каждой крысы в асептических условиях под наркозом, вызванным комплексным введением препаратов «Золетил-100» и «КсилаВет», проводили депиляцию области лопаток с последующим формированием раны круглой формы ($d = 20$ мм) путем иссечения кожных покровов и слоя подкожной клетчатки. Обработку операционного поля проводили однократно 70%-м этиловым спиртом. Все вещества (ФР, раствор $ZnSO_4$,

ГВ-Zn) животным наносили на поврежденный участок ежедневно в продолжении 21 сут в объеме 0,5 мл (концентрация Zn в пересчете на элементарный Zn – 1,67 мг/мл). Анализ состояния животных, задействованных в эксперименте, оценивали ежедневно. Для комплексной оценки течения раневого процесса использовали метод планиметрического анализа ран на 3-и, 5-, 7-, 9-, 11-, 13-, 15-, 17-, 19- и 21-е сут с применением цифровой камеры в одинаковых условиях с последующим анализом изображения с помощью программы ImageJ.

Изучение резорбтивных свойств образцов ГВ-Zn проводилось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) с целью установления способности цинка преодолевать клеточные барьеры и накапливаться в тканях и биологических субстратах. После курсового нанесения на раны образцов ГВ-Zn прижизненно у животных отбиралась кровь, с последующим получением сыворотки, а затем крыс подвергали эвтаназии посредством CO_2 асфиксии и некропсии с забором биоматериала для последующего определения содержания Zn в тканях животных, в частности у крыс отбирали шерсть и кожу с раневой поверхности. Для проведения анализа методом ИСП-МС исследуемые образцы высушивали и подвергались озолению в режиме $500\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 2 ч. Полученные зольные остатки переводили в раствор. Перевод в раствор осуществляли, используя предварительно очищенную концентрированную азотную кислоту (ос. ч.), перекись водорода и систему микроволнового разложения

Milestone Start D (200 °C, 700 Вт). После чего пробы высушивали при температуре 100–110 °C до состояния влажных солей, затем количественно переносили в одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 50 мл с помощью фонового раствора – 15%-й азотной кислоты со следами плавиковой кислоты.

Параллельно с образцами готовили холостой опыт. Перед анализом в каждую пробирку с образцами и холостой пробой был добавлен внутренний стандарт – раствор индия. После чего все образцы были разбавлены до единого объема. Расчет конечных результатов включал в себя учет коэффициента разбавления, учет внутреннего стандарта, учет холостого опыта. Анализ проводили на квадрупольном масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой низкого разрешения Agilent 7500cx (Agilent Technologies, США).

Статистический анализ полученных данных в случае *in vivo* экспериментов проводили с помощью программы Statistica 8.0. Проверку на нормальность распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. В том случае, когда распределение в экспериментальных группах было нормальным и соблюдалось межгрупповое равенство дисперсий, дальнейшую обработку проводили с помощью дисперсионного анализа (ANOVA, параметрический метод) с последующим апостериорным сравнением (post-hoc) с помощью тестов Бонферрони и Даннета. При распределении, отличном от нормального, и несоблюдении межгруппового

равенства дисперсий использовали критерии Краскела – Уоллиса и Фридмана (непараметрическая статистика).

Все результаты представлены в виде среднего и ошибки средней ($M \pm SE$). В исследовании резорбтивных свойств статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica 8.0 и GraphPad Prism 8.0. Анализ уровня статистической значимости различий между выборками выполняли при помощи критерия Краскела – Уоллиса. Достоверность различий во всех экспериментах считали статистически значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты планиметрического исследования по влиянию исследуемых цинксодержащих биоконпозиций на основе ГВ при ежедневном нанесении на асептические раны представлены в табл. 2 и 3. Начиная с 5-х сут внесения ФР, а также образцов CHS-Zn, Peat1-Zn и Peat2-Zn, отмечалось статистически значимое уменьшение доли от исходной площади раневой поверхности. Статистически значимое уменьшение доли от исходной площади раневой поверхности при внесении образцов СНР-Zn и FA-Zn наблюдалось позже (с 7-х сут) ($p < 0,05$). Важно отметить, что при внесении Peat1-Zn (на 5-, 7- и 11-е сут), FA-Zn (на 7-, 11-, 17-е сут) и СНР-Zn (на 21-е сут) у животных наблюдалось статистически значимое уменьшение доли от исходной площади раневой поверхности в сравнении с группой сравнения $ZnSO_4$ ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние цинксодержащих биоконпозиций (ГВ-Zn) на заживление асептических ран, $M \pm SE$										
Группа	Доля от исходной площади раневой поверхности в зависимости от срока заживления, %									
	3-и сут	5-е сут	7-е сут	9-е сут	11-е сут	13-е сут	15-е сут	17-е сут	19-е сут	21-е сут
ФР	94,02 ± 4,97	90,81 ± 5,61 [^]	69,43 ± 1,74 [^]	42,00 ± 5,33	27,83 ± 1,93 [^]	19,48 ± 3,05 [^]	12,42 ± 1,83 [^]	6,94 ± 1,03 [^]	3,09 ± 0,69 [^]	1,63 ± 0,63 [^]
ZnSO ₄	95,14 ± 4,70	91,75 ± 5,19	74,59 ± 4,09 [^]	46,57 ± 6,76 [^]	28,25 ± 2,32 [^]	19,48 ± 1,82 [^]	14,17 ± 1,65 [^]	7,31 ± 0,97 [^]	3,13 ± 0,81 [^]	2,04 ± 0,35 [^]
СНР-Zn	93,00 ± 4,09	85,17 ± 3,84	65,23 ± 3,19 [^]	39,24 ± 3,65 [^]	20,44 ± 1,27 [^]	15,12 ± 1,76 [^]	7,59 ± 1,32 [^]	3,22 ± 1,09 [^]	0,15 ± 0,15 [^]	0,00 ± 0,00 [#]
FA-Zn	86,37 ± 4,58	79,56 ± 4,71	59,66 ± 2,46 [#]	34,03 ± 2,06 [^]	17,05 ± 1,47 [#]	11,50 ± 1,03 [^]	6,91 ± 0,94 [^]	2,68 ± 0,79 ^{#*}	0,56 ± 0,28 [^]	0,27 ± 0,17 [^]
CHS-Zn	108,05 ± 4,02	95,07 ± 3,01 [^]	81,13 ± 3,47 [^]	48,66 ± 5,13 [^]	24,73 ± 1,76 [^]	22,85 ± 2,14 [^]	11,53 ± 1,63 [^]	8,37 ± 1,10 [^]	2,55 ± 0,94 [^]	1,56 ± 0,65 [^]
Peat1-Zn	95,50 ± 6,45	77,29 ± 5,51 [#]	58,06 ± 4,53 [#]	33,09 ± 2,86 [^]	16,05 ± 1,90 [#]	12,69 ± 1,65 [^]	8,14 ± 1,40 [^]	3,55 ± 0,65 [^]	1,61 ± 1,01 [^]	0,56 ± 0,56 [^]
Peat2-Zn	104,69 ± 6,17	90,25 ± 3,40 [^]	68,06 ± 4,34 [^]	41,82 ± 2,68 [^]	22,31 ± 1,35 [^]	17,42 ± 1,59 [^]	9,82 ± 0,76 [^]	3,63 ± 0,73 [^]	1,25 ± 0,53 [^]	0,46 ± 0,33 [^]

Различия статистически значимы: * с группой «ФР», $p < 0,05$; # с группой «ZnSO₄», $p < 0,05$; ^ с группой «3-и сут», $p < 0,05$.

Таблица 3

Динамика заживления плоскостной раны у крыс под влиянием цинксодержащих биокомпозиций (ГВ-Zn)

Группа	Вводимое вещество	Продолжительность лечения, сут			
		3	7	13	21
1	ФР				
2	ZnSO ₄				
3	CHP-Zn				
4	FA-Zn				
5	CHS-Zn				
6	Peat1-Zn				
7	Peat2-Zn				

Результаты оценки содержания Zn в участках кожи раневой поверхности, шерсти, сыворотке и в интактных участках при наружном нанесении на раневую поверхность цинксодержащих образцов (ГВ-Zn) представлены на рис. 1. Установлено, что содержание Zn в шерсти крыс, получавших ФР на раневую поверхность, сопоставимо с литературными данными $149,23 \pm 9,04$ мкг/мл [16]. У крыс, получавших препарат сравнения ZnSO₄, исследуемые образцы CHP-Zn и FA-Zn, значимых различий с контрольной группой по содержанию цинка в шерсти не выявлено (рис. 1, a).

При исследовании CHS-Zn, Peat1-Zn и Peat2-Zn наблюдалось статистически значимое увеличение содержания Zn в шерсти крыс на 82, 78 и 73% соответственно по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о наличии резорбтивного действия при их местном применении. Содержание Zn в раневой поверхности кожи согласуется с физиологическими показателями Zn в коже [17]. Показано, что все образцы кожи, на которые наносились ГВ-Zn, имели более высокую концентрацию Zn по сравнению с контрольной группой (см. рис. 1, b). Максимальная концентрация Zn в коже отмечена

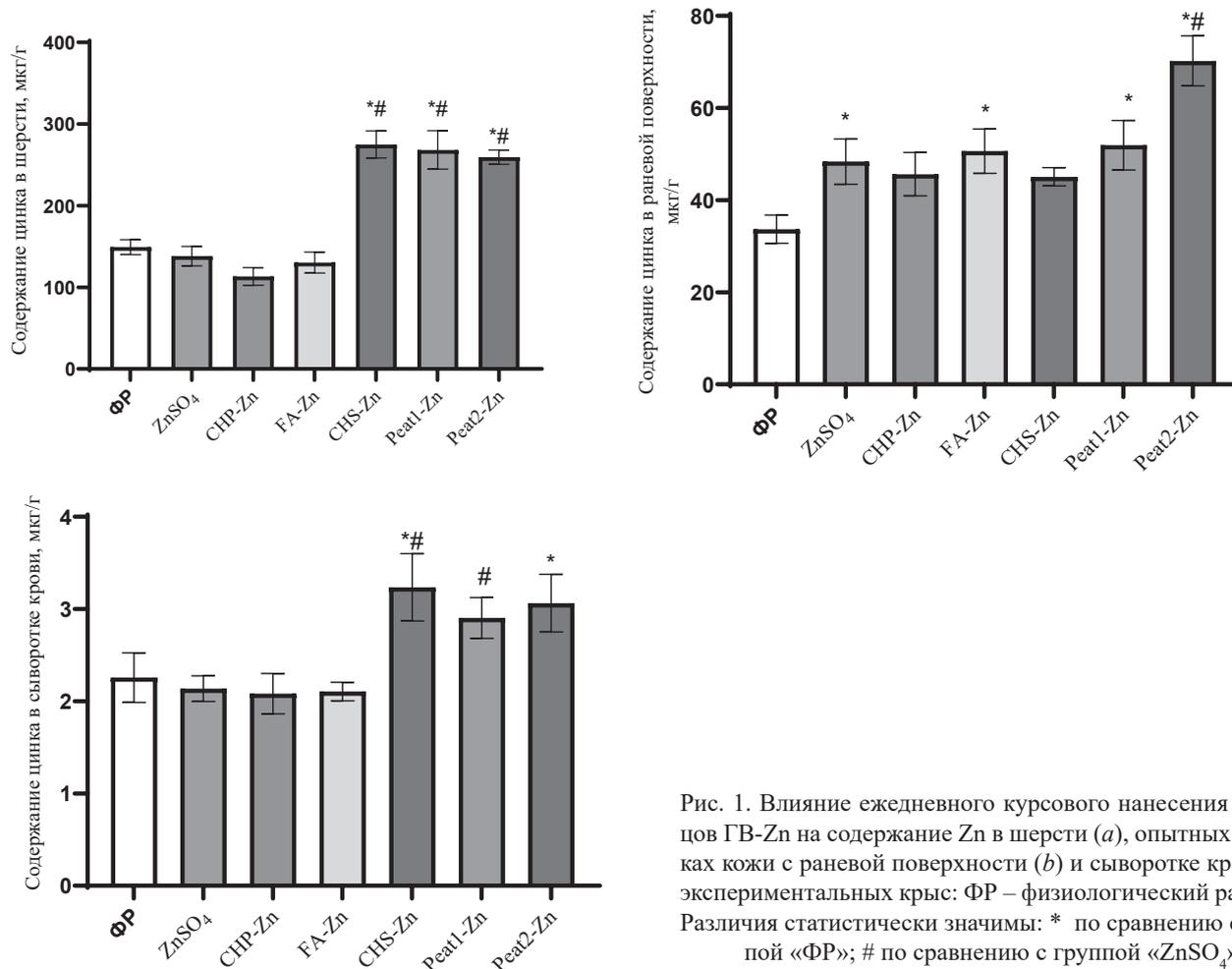


Рис. 1. Влияние ежедневного курсового нанесения образцов ГВ-Zn на содержание Zn в шерсти (a), опытных участках кожи с раневой поверхностью (b) и сыворотке крови (c) экспериментальных крыс: ФР – физиологический раствор. Различия статистически значимы: * по сравнению с группой «ФР»; # по сравнению с группой «ZnSO₄»

для образца Peat2-Zn ($70,2 \pm 5,4$ мкг/г), у остальных образцов CHP-Zn, FA-Zn, CHS-Zn, Peat1-Zn, в том числе у препарата сравнения ZnSO₄, отмечено повышение концентрации Zn по сравнению с контролем на 36, 51, 36, 54 и 45% соответственно, однако статистически значимых различий между образцами не наблюдалось. По результатам оценки содержания Zn в сыворотке крови крыс показано, что увеличение концентрации Zn наблюдалось только для образцов CHS-Zn, Peat1-Zn и Peat2-Zn в сравнении с контрольной группой ($3,2 \pm 0,37$; $2,9 \pm 0,2$ и $3,1 \pm 0,3$ мкг/г). У остальных образцов ZnSO₄, CHP-Zn и FA-Zn значимых отличий не наблюдалось по сравнению с контрольной группой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, курсовое нанесение цинксодержащих биокомпозиций FA-Zn и Peat1-Zn, содержащих элементарный цинк в концентрации 1,67 мг/мл, ускоряет заживление асептических ран, о чем свидетельствует уменьшение площади раневой поверхности в сравнении с площадью раны при нанесении

ZnSO₄ с эквивалентной концентрацией элементарного цинка. Установлено, что цинксодержащие биокомпозиции ГВ-Zn при курсовом применении обладают резорбтивным действием, но показатели содержания Zn в биоматериале не превышают уровня допустимых предельных концентраций.

Также отмечено, что базовые лиганды ГВ оказывают влияние на биодоступность Zn. Так, образцы CHP-Zn и FA-Zn не влияют на биодоступность Zn, а образцы CHS-Zn, Peat1-Zn и Peat2-Zn увеличивают биодоступность Zn по сравнению с группой контроля ZnSO₄. Обнаруженный репаративный эффект композиций цинка и гуминовых лигандов, на фоне их низкой токсичности, представляет интерес для дальнейшего изучения с целью разработки на их основе эффективных ранозаживляющих препаратов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кадомцева А.В., Зарубенко П.А., Логинова Л.Б. Роль иммобилизованных металлоорганических соединений в комплексном лечении гнойно-воспалительных процессов кожи и мягких тканей. *Новости хирургии*. 2021;3:334–336. DOI: 10.18484/2305-0047.2021.3.334.

2. Tacconelli E., Müller N.F., Lemmen S., Mutters N.T., Hangel S., Meyer E. Infection risk in sterile operative procedures. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2016;113(16):271–278. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0271.
3. Кузьмичев А.С., Богатиков А.А., Добрецов К.Г., Зайцева И.В. Применение наночастиц в лечении гнойных ран. *Российские биомедицинские исследования*. 2022;7(3):36–42.
4. Filipović M., Novinscak T. Errors in wound management. *Acta Medica Jugoslavica*. 2014;1:69–73.
5. Лебедева С.А., Галенко-Ярошевский (мл.) П.А., Мельник С.И., Козин С.В., Демура Т.А., Аршинов Я.Р. и др. Ранозаживляющее действие металлоорганического комплекса цинка на модели плоскостной кожной раны у крыс. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022;8(1):71–81. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-5.
6. Хлебникова А.Н., Петрунин Д.Д. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2013;(6):100–116.
7. Лебедева С.А., Галенко-Ярошевский (мл.) П.А., Рычка В.О., Жаров Ю.В., Заборина Д.С., Козин С.В. Молекулярные аспекты ранозаживляющего действия цинка как эссенциального микроэлемента. *Микроэлементы в медицине*. 2022;23(1):14–23. DOI: 10.19112/2413-6174-2022-23-1-14-23.
8. Kogan S., Sood A., Garnick M.S. Zinc and wound healing: A review of zinc physiology and clinical applications. *Wounds*. 2017;29(4):102–106.
9. Cahú T.B., Silva R.A., Silva R.P.F., Silva M.M., Arrud I.R.S., Silva J.F. et al. Evaluation of chitosan-based films containing gelatin, chondroitin 4-sulfate and ZnO for wound healing. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2017;183(3):765–777. DOI: 10.1007/s12010-017-2462-z.
10. Cervantes J., Eber A.E., Perper M., Nascimento V.M., Nouri K., Keri J.E. The role of zinc in the treatment of acne: a review of the literature. *Dermatologic Therapy*. 2018;31(1):1–17. DOI: 10.1111/dth.12576.
11. Скальный А.В., Сотникова Т.И., Коробейникова Т.В., Тиньков А.А. Значение коррекции дефицита цинка в практической медицине: обзор. *Сеченовский вестник*. 2022;13(4):4–17. DOI: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.4-17.
12. Rahimzadeh M.R., Rahimzadeh M.R., Kazemi S., Moghadamnia A.A. Zinc poisoning – symptoms, causes, treatments. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2020;20(15):1489–1498. DOI: 10.2174/1389557520666200414161944.
13. Wang Y., Shi L., Wu H., Li Q., Hu W., Zhang Z. et al. Graphene oxide–IPDI–Ag/ZnO@Hydroxypropyl cellulose nanocomposite films for biological wound-dressing applications. *ACS Omega*. 2019;4(13):15373–15381. DOI: 10.1021/acsomega.9b01291.
14. Kantipudi S., Sunkara J.R., Rallabhandi M., Thonangi C.V., Cholla R.D., Kollu P. et al. Enhanced wound healing activity of Ag–ZnO composite NPs in Wistar albino rats. *IET Nanobiotechnology*. 2018;12(4):473–478. DOI: 10.1049/iet-nbt.2017.0087.
15. Зыкова М.В., Логвинова Л.А., Белоусов М.В. Высокомолекулярные соединения гуминовой природы – перспективные биологически активные соединения. *Традиционная медицина*. 2018;2(53):27–38.
16. Скальный А.А., Тиньков А.А., Медведева Ю.С., Алчинова И.Б., Бонитенко Е.Ю., Карганов М.Ю., Никонов А.А. Влияние введения цинка на его содержание в тканях лабораторных животных и активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови при физической нагрузке. *Казанский медицинский журнал*. 2015;96(5):862–868.
17. Senapati A., Thompson R.P.H. Zinc deficiency and the prolonged accumulation of zinc in wounds. *British Journal of Surgery*. 1985;72(7):583–584.

Вклад авторов

Зыкова М.В., Перминова И.В., Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна статьи, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Ларионов К.С. – синтез цинксодержащих биокомпозиций на основе гуминовых лигандов. Братишко К.А., Азаркина Л.А., Уфандеев А.А., Рабцевич Е.С., Михалев Д.А., Копнов И.С. – исследования биологической активности и резорбтивного действия, анализ данных. Азаркина Л.А. – подготовка черновика рукописи. Перминова И.В., Белоусов М.В. – привлечение финансирования, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Зыкова Мария Владимировна – д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой химии, СибГМУ, г. Томск, zykova.mv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1973-8983>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, руководитель Центра доклинических исследований, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9348-4945>

Ларионов Константин Сергеевич – техник, студент химического факультета, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, ks.larionov@mail.ru

Азаркина Людмила Анатольевна – канд. фарм. наук, доцент кафедры химии, СибГМУ, г. Томск, ludmila_logvinova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0167-7043>

Буйко Евгений Евгеньевич – лаборант, Центр доклинических исследований, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Братишко Кристина Александровна – ст. преподаватель, кафедра химии, СибГМУ, г. Томск, kr-1295@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6571-4061>

Уфандеев Александр Анатольевич – мл. науч. сотрудник, Центр доклинических исследований, СибГМУ, г. Томск, ufandeev@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3837-1179>

Рабцевич Евгения Сергеевна – канд. хим. наук, доцент кафедры химии, СибГМУ; инженер-исследователь, испытательная лаборатория, Аналитический центр геохимии и природных систем, НИ ТГУ, г. Томск, evgenia882-a@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9275-4453>

Михалев Дмитрий Александрович – ассистент, кафедра химии, СибГМУ, г. Томск, diman021999@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5292-1368>

Копнов Иван Сергеевич – лаборант, кафедра химии, СибГМУ, г. Томск, Россия, kopnov98@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2973-8335>

Перминова Ирина Васильевна – д-р хим. наук, профессор, зав. научно-исследовательской лабораторией природных гуминовых систем кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, iperminova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9084-7851>

Белоусов Михаил Владимирович – д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, mvb63@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2153-7945>

(✉) **Азаркина Людмила Анатольевна**, ludmila_logvinova@mail.ru

Поступила в редакцию 04.09.2023;
одобрена после рецензирования 12.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Распространенность некоторых терапевтических заболеваний в зависимости от уровней адипокинов у людей до 45 лет

Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Щербакова Л.В., Шрамко В.С., Стахнёва Е.М., Худякова А.Д., Садовский Е.В., Денисова Д.В., Рагино Ю.И.

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН) Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова 175/1

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить встречаемость некоторых распространенных терапевтических заболеваний у молодых людей трудоспособного и детородного возраста в зависимости от уровней адипокинов.

Материалы и методы. В исследование включено 1 340 человек в возрасте 25–44 лет. Методом мультиплексного анализа определены уровни лептина, адипонектина, адипина, липокалина-2, ингибитора активатора плазминогена-1 (ИАП-1) и резистина. Изучены: гиперхолестеринемия липопротеинов низкой плотности (гиперХС-ЛНП), ишемическая болезнь сердца (ИБС), сахарный диабет 2-го типа (СД2), артериальная гипертензия (АГ), почечная дисфункция (ПД), хронический бронхит (ХБ).

Результаты. С увеличением уровня адипонектина распространенность определенной ИБС возрастает в 8,6 раз. Самый высокий квартиль уровня адипина характеризуется увеличением распространенности гиперХС-ЛНП на 12,9%, АГ на 3,9% и ПД на 17,9%. Квартили липокалина-2 показали более высокую распространенность гиперХС-ЛНП, АГ и ПД в Q_4 по сравнению с Q_1 . Распространенность ХБ ассоциирована со снижением уровня липокалина-2 и выше в Q_1 на 35,9%, в сравнении с Q_4 . В квартилях ИАП-1 встречаемость СД2 и гиперХС-ЛНП в 2 и 1,5 раза соответственно выше, а ПД в 2,5 раза ниже в Q_4 , чем в Q_1 . В квартилях резистина на 13–38% увеличивается распространенность гиперХС-ЛНП, АГ, ПД. На 20% снижается распространенность хронического бронхита в Q_4 по сравнению с Q_1 . Встречаемость гиперХС-ЛНП и ПД была выше в Q_4 лептина.

Заключение. Результаты свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований, направленных на изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе эффектов адипокинов, что позволит найти комбинированный подход, направленный на восстановление нормальных физиологических уровней адипокинов. Это может дать положительный эффект при изученных терапевтических заболеваниях.

Ключевые слова: терапевтические заболевания, адипокины, адипонектин, липокалин-2, резистин

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

Источник финансирования. Статья подготовлена в рамках государственного задания «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» (№ 122031700094-5_) и при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 21-15-00022).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 16 от 26.11.2019).

Для цитирования: Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Щербакова Л.В., Шрамко В.С., Стахнёва Е.М., Худякова А.Д., Садовский Е.В., Денисова Д.В., Рагино Ю.И. Распространенность некоторых терапевтических

заболеваний в зависимости от уровней адипокинов у людей до 45 лет. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):48–56. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-48-56>.

Prevalence of some internal diseases depending on the adipokine level in people under 45 years of age

Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Shcherbakova L.V., Shramko V.S., Stakhneva E.M., Khudyakova A.D., Sadovski E.V., Denisova D.V., Ragino Yu.I.

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim was to study the prevalence of some common internal diseases in young people of working and childbearing age, depending on the levels of adipokines.

Materials and methods. The study included 1,340 people aged 25–44 years. The levels of leptin, adiponectin, adipisin, lipocalin-2, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and resistin were determined by the multiplex analysis. Low-density lipoprotein hypercholesterolemia (LDL hypercholesterolemia), coronary artery disease (CAD), type 2 diabetes mellitus (T2DM), arterial hypertension (AH), renal dysfunction (RD), and chronic bronchitis (CB) were studied.

Results. With an increase in the level of adiponectin, the prevalence of CAD increased by 8.6 times. The highest quartile of the adipisin level was characterized by an increase in the prevalence of LDL hypercholesterolemia by 12.9%, AH by 3.9%, and RD by 17.9%. The quartiles of lipocalin-2 showed higher prevalence of LDL hypercholesterolemia, AH, and RD in Q_4 compared to Q_1 . The prevalence of CB was associated with a decrease in the level of lipocalin-2 and was higher by 35.9% within Q_1 compared to Q_4 . In the quartiles of PAI-1, the prevalence of T2DM and LDL hypercholesterolemia was 2 and 1.5 times higher, respectively, and the prevalence of RD was 2.5 times lower in Q_4 than in Q_1 . In quartiles of resistin, the prevalence of LDL hypercholesterolemia, AH, and RD increased by 13–38%, while the prevalence of CB decreased by 20% in Q_4 , compared to Q_1 . The prevalence of LDL hypercholesterolemia and RD was higher within Q_4 of leptin.

Conclusion. The results indicate the need for further research aimed at studying the molecular mechanisms underlying the effects of adipokines. This will allow to find a combined approach to restoring normal physiological levels of adipokines, which can have a positive effect in the studied internal diseases.

Keywords: internal diseases, adipokines, adiponectin, lipocalin-2, resistin

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

Source of financing. The article was written within the state assignment “Epidemiological monitoring of the population’s health and study of molecular genetic and molecular biological mechanisms underlying the development of common internal diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention, and treatment” (No. 122031700094-5_) and funded by the Russian Science Foundation grant (No. 21-15-00022).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study and to personal data processing. The study was approved by the local Ethics Committee at the Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 16 of 26.11.2019).

For citation: Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Shcherbakova L.V., Shramko V.S., Stakhneva E.M., Khudyakova A.D., Sadovski E.V., Denisova D.V., Ragino Yu.I. Prevalence of some internal diseases depending on the adipokine level in people under 45 years of age. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):48–56. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-48-56>.

ВВЕДЕНИЕ

Адипокины являются важными циркулирующими биомолекулами, опосредующими межтканевые взаимодействия по всему организму и, таким образом, играющими ключевую роль в поддержании эндокринного гомеостаза. Наиболее исследованными адипокинами являются адипонектин, лептин, резистин, хемотаксический белок 1, интерлейкин (IL) 6, IL-1 β , IL-10. Адипокины участвуют в различных функциях и могут влиять на множество процессов, включая модуляцию энергии и аппетита, метаболизм липидов и глюкозы, функции инсулина и эндотелиальных клеток, воспаление и т.д. [1].

К настоящему времени выявлены многочисленные ассоциации адипокинов с широко распространенными неинфекционными заболеваниями, включая сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет 2-го типа (СД2), артериальную гипертензию и другие [2, 3], хотя функции и молекулярные механизмы, лежащие в основе эффектов адипокинов, до конца не выяснены. Целью нашего исследования было изучить встречаемость некоторых распространенных терапевтических заболеваний у молодых людей трудоспособного и детородного возраста в зависимости от уровней адипокинов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе популяционной выборки жителей г. Новосибирска 25–44 лет, сформированной в период 2013–2017 гг. в НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. Для построения выборки была использована база Территориального фонда обязательного медицинского страхования по Новосибирской области, откуда с помощью генератора случайных чисел были отобраны лица обоего пола в возрасте 25–44 лет. За весь период в рамках одномоментного популяционного скрининга было обследовано 1 512 человек, забран биологический материал, создана база данных.

Все пациенты подписали информированное согласие на обследование и обработку персональных данных. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 16 от 26.11.2019). В данное исследование включены 1 340 человек (618 мужчин, 720 женщин) – все лица, у которых на момент проведения исследования в биобанке НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН имелись образцы биологического материала. Два человека не заполнили анкету, включающую демографические и социальные данные, но их сыворотка была включена в работу.

Клиническое обследование пациентов проводили в ФГБУ НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. В программу обследования входили: сбор демографических и социальных данных, опрос о привычке курения, двухкратное измерение артериального давления (АД), спирометрия, антропометрия (измерение роста, массы тела, окружность талии (ОТ), окружность бедер (ОБ)), функциональные обследования и др.

В сыворотке крови определяли содержание общего холестерина (ХС), триглицеридов, ХС липопротеинов высокой плотности и глюкозы энзиматическим методом с использованием набор реагентов Thermo Fisher Scientific (Финляндия) на биохимическом анализаторе Konelab Prime 30i (Финляндия). Вычисление значений концентрации ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП) проводили по формуле Фридвальда. Пересчет глюкозы сыворотки крови в глюкозу плазмы крови натощак (ГПН) осуществлялся по формуле (EASD, 2005 г.): ГПН (ммоль/л) = $-0,137 + 1,047 \times$ глюкоза сыворотки (ммоль/л). Методом мультиплексного анализа с использованием наборов реагентов Human Metabolic Hormone V3 (США) и Human Adipokine Panel 1 (США) на проточном флуориметре Luminex MAGPIX (США) определяли уровни лептина, адипонектина, адипсина, липокалина-2, ингибитора активатора плазминогена-1 (ИАП-1) и резистина. Концентрации выражены в нг/мл для липокалина-2, ингибитора активатора плазминогена-1, лептина и резистина, в мкг/мл – для адипонектина и адипсина.

Гиперхолестеринемия липопротеинов низкой плотности (гиперХС-ЛНП) устанавливалась при уровне ХС ЛНП $>3,0$ ммоль/л [4]. Диагноз «ишемическая болезнь сердца» (ИБС) (по эпидемиологическим критериям – «Определенная ИБС») ставился при наличии следующих критериев: перенесенный крупноочаговый инфаркт миокарда (электрокардиография, ЭКГ), стенокардия напряжения (опросник Роуза), ишемические изменения на ЭКГ без гипертрофии левого желудочка, нарушения ритма и проводимости (ЭКГ). Сахарный диабет 2-го типа устанавливали при наличии уровня глюкозы плазмы крови натощак ≥ 7 ммоль/л [5]. Артериальная гипертензия (АГ) констатировалась при среднем систолическом АД (САД) больше 140 мм рт. ст. и (или) диастолическом АД (ДАД) больше 90 мм рт. ст. согласно клиническим рекомендациям «Артериальная гипертензия у взрослых», утвержденным Минздравом России в 2020 г. [6]. Наличие почечной дисфункции регистрировалось при скорости клубочковой фильтрации (СКФ) < 90 мл/мин/1,73 см². Скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась по формуле СКД–ЕРІ. Диагноз «хронический бронхит» (ХБ) устанавлива-

ли на основании анамнеза: кашель с выделением мокроты в течение 3 мес в году и чаще на протяжении 2 лет и более, отсутствие признаков бронхиальной обструкции [7].

Исходные клинико-анамнестическая и биохимическая характеристики исследуемой выборки обобщены в табл. 1.

Таблица 1

Клинико-анамнестическая и биохимическая характеристики исследуемой выборки, $Me [Q_1; Q_4]$	
Показатель	Значение
Возраст, лет	37,08 [31,5; 41,83]
САД, мм рт. ст.	120,0 [110,5; 130,0]
ДАД, мм рт. ст.	78,5 [71,6; 87,0]
ИМТ	25,23 [22,16; 29,14]
Глюкоза плазмы крови натощак, ммоль/л	5,73 [5,31; 6,04]
ОХС, ммоль/л	4,99 [4,32; 5,68]
ХС-ЛВП, ммоль/л	1,29 [1,09; 1,50]
ХС-ЛНП, ммоль/л	3,15 [2,51; 3,76]
ТГ, ммоль/л	0,97 [0,69; 1,44]
Креатинин, мкмоль/л	74,0 [67,0; 82,0]
СКФ	101,37 [90,36; 110,05]

Примечание. САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ИМТ – индекс массы тела, ОХС – общий холестерин, ХС-ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды, СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе SPSS 20.0. Проверка на нормальность распределения непрерывных признаков проводилась методом Колмогорова – Смирнова. Количественные признаки, распределение которых было отличным от нормального, представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_4]$. Категориальные показатели представлены в виде относительных значений (%). Для сравнения долей использовался критерий χ^2 Пирсона. Статистически значимым различие считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровни изучаемых адипокинов представлены в табл. 2. В исследуемой выборке ($n = 1\ 340$) сывороточные концентрации адипонектина, адипсина, липокалина-2, ИАП-1, резистина и лептина были измеримы в 58, 82, 98, 61, 77 и 98% образцов соответственно, что связано с получением в некоторых пробах слишком низких уровней, не позволяющих обнаружить данный биомаркер.

Для изучения распространенности терапевтических заболеваний в зависимости от концентраций в крови изучаемых адипокинов вся популяционная выборка была распределена на квартили на основе содержания изучаемых показателей (табл. 2).

Таблица 2

Уровни изучаемых адипокинов в квартилях, $Me [Q_1; Q_4]$						
Параметр	Адипонектин, мкг/мл	Адипсин, мкг/мл	Липокалин-2, нг/мл	ИАП-1, нг/мл	Резистин, нг/мл	Лептин, нг/мл
Вся выборка	37,14 [25,78; 114,47]	11,69 [7,59; 14,1]	385,69 [198,36; 1133,02]	21,66 [13,18; 32,41]	152,84 [25,74; 596,22]	4524,61 [1743,14; 8513,13]
Q_1	16,1 [11,18; 22,31]	4,35 [2,79; 6,04]	125,7 [82,46; 166,44]	9,41 [6,27; 11,10]	13,93 [6,74; 19,57]	959,23 [435,82; 1299,6]
Q_2	32,15 [28,06; 34,21]	9,75 [8,81; 10,55]	297,62 [242,92; 343,81]	17,85 [15,95; 19,71]	51,98 [35,13; 101,08]	2994,16 [2123,5; 3793,3]
Q_3	54,19 [41,04; 98,83]	13,03 [12,42; 13,50]	668,27 [503,57; 976,42]	26,25 [23,81; 29,43]	502,83 [414,56; 551,92]	6280,95 [5375,41; 7112,79]
Q_4	174,15 [138,79; 241,29]	16,41 [14,85; 25,31]	1475,33 [1281,55; 1744,59]	44,70 [37,61; 58,99]	688,98 [639,61; 764,34]	15961,62 [10847,2; 19819,06]

Распространенность изучаемых заболеваний в квартилях адипокинов представлена в табл. 3. Результаты исследования показали, что с увеличением уровня адипонектина распространенность определенной ИБС возрастает в 8,6 раза.

Самый высокий квартиль уровня адипсина характеризуется увеличением распространенности гиперХС-ЛНП на 12,9%, АГ на 3,9% и почечной дисфункции на 17,9%. Анализ квартилей по уровню

липокалина-2 показал более высокую распространенность гиперХС-ЛНП, АГ и почечной дисфункции в Q_4 по сравнению с Q_1 . Распространенность хронического бронхита ассоциирована со снижением уровня липокалина-2 и выше в Q_1 на 35,9% в сравнении с Q_4 . В квартилях ИАП-1 встречаемость СД2 и гиперХС-ЛНП в 2 и 1,5 раза соответственно выше, а почечной дисфункции в 2,5 раза ниже в Q_4 , чем в Q_1 .

Таблица 3

Распространенность изучаемых заболеваний в квартилях адипоцитокинов, %			
Группа	Q_1	Q_4	p
Адипонектин			
ГиперХС-ЛНП	58,1	59,7	0,940
ИБС	0,5	4,3	0,050
СД2	46,7	36,0	0,867
ХБ	55,6	66,7	0,529
АГ	9,9	8,3	0,312
Почечная дисфункция	22,4	22,4	0,276
Адипсин			
ГиперХС-ЛНП	48,7	61,6	0,009
ИБС	1,1	2,3	0,490
СД2	31,3	35,1	0,968
Бронхит	50,0	56,9	0,230
АГ	5,6	9,5	<0,0001
Почечная дисфункция	17,2	35,1	<0,0001
Липокалин-2			
ГиперХС-ЛНП	48,1	61,0	0,005
ИБС	1,0	1,9	0,516
СД2	37,5	30,0	0,958
Бронхит	40,9	5,0	<0,0001
АГ	3,7	11,6	0,001
Почечная дисфункция	12,2	24,0	<0,0001
ИАП-1			
ГиперХС-ЛНП	44,1	58,9	0,012
ИБС	1,0	0,0	0,075
СД2	30,0	64,3	0,043
Бронхит	57,1	56,5	0,564
АГ	4,9	5,9	0,696
Почечная дисфункция	20,6	8,0	0,010
Резистин			
ГиперХС-ЛНП	48,0	61,3	0,010
ИБС	0,8	3,3	0,180
СД2	40,0	31,0	0,808
Бронхит	20,0	0	0,001
АГ	1,2	14,1	<0,0001
Почечная дисфункция	3,4	41,2	<0,0001
Лептин			
ГиперХС-ЛНП	50,9	59,5	0,038
ИБС	2,2	2,2	0,881
СД2	18,8	48,1	0,108
Бронхит	41,7	57,9	0,536
АГ	6,4	10,1	0,394
Почечная дисфункция	14,0	31,3	<0,0001

Примечание. ГиперХС-ЛНП – гиперхолестеринемия липопротеинов низкой плотности, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, ХБ – хронический бронхит, АГ – артериальная гипертензия.

При рассмотрении квартилей резистина наблюдается увеличение на 13–38% распространенности гиперХС-ЛНП, АГ, почечной дисфункции и снижение на 20% хронического бронхита в Q_4 по сравнению с Q_1 . Анализ квартилей лептина показал статистически значимые изменения в распространенности только

гиперХС-ЛНП и почечной дисфункции. Встречаемость данных заболеваний была выше в Q_4 .

ОБСУЖДЕНИЕ

Адипокины в сыворотке крови человека обнаруживаются в широком динамическом диапазоне – от пг/мл до мкг/мл. Изменения экспрессии и секреции адипокинов коррелируют с такими терапевтическими заболеваниями, как СД2, гипертония, ХБ и сердечно-сосудистые заболевания, которые представляют собой серьезную проблему для здоровья во всем мире.

Адипонектин секретируется главным образом жировой тканью и существует в клетках и плазме в трех основных формах: низкомолекулярный тример, среднемолекулярный гексамер и высокомолекулярный мультимер (НМВ), который является основной биоактивной изоформой, способствующей его инсулин-сенситизирующему и сердечно-сосудистому защитному эффектам [8].

Исследования показывают, что уровни адипонектина в плазме снижаются у пациентов с ожирением [9], СД2 [10, 11], атеросклерозом [12] и гипертонией [13]. Наряду с обратной зависимостью от общей массы жировой ткани, секреция адипонектина также регулируется качеством жировой ткани [9]. Метаболически здоровые, но страдающие ожирением люди, как правило, имеют более высокие уровни адипонектина по сравнению с нездоровыми с аналогичным количеством жировой ткани [14]. Кроме того, неорганизованное образование изоформ адипонектина может быть связано с кардиометаболическими нарушениями. У пациентов с ИБС наблюдается более низкая доля мультимера НМВ в отличие от более высокой тримерной формы. Аналогично только адипонектин НМВ повышается после снижения массы тела у пациентов с ожирением [15]. Работы ряда исследователей показали, что высокие уровни адипонектина связаны с неблагоприятными сердечно-сосудистыми и другими метаболическими исходами [16–18]. Наше исследование показало, что в квартале с высоким уровнем адипонектина встречаемость ИБС статистически значимо выше.

Лептин синтезируется преимущественно жировой тканью и в небольшом количестве слизистой дна желудка. Структура лептина сходна по своему строению с провоспалительными цитокинами, такими как IL-6 и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор. Лептин опосредует свои эффекты, связываясь со специфическими рецепторами (ObR), экспрессируемыми в головном мозге, а также в периферических тканях (нервной ткани, печени, поджелудочной железе, сердце и кишечнике). Главным

органом-мишенью лептина служит дугообразное ядро гипоталамуса, которое имеет важную роль в регулировании аппетита и энергетического гомеостаза. Лептин подавляет потребление пищи и способствует расходованию энергии. Независимо от этих эффектов, лептин улучшает чувствительность периферических тканей (печени и скелетных мышц) к инсулину и модулирует функцию β -клеток поджелудочной железы. В большинстве случаев у лиц с ожирением, несмотря на высокий уровень циркулирующего в кровеносном русле лептина, не происходит снижение массы тела, что отражает наличие лептинорезистентности [19].

Известно, что многие факторы, такие как свободные жирные кислоты, эстроген, фактор некроза опухоли-альфа или нарушение почечного клиренса, стимулируют секрецию лептина [20]. В нашем исследовании в квартиле с высоким уровнем лептина встречаемость лиц с почечной дисфункцией (СКФ < 90) выше в 2 раза в сравнении с квартилем низких значений лептина. Так, уровни циркулирующего лептина повышены на ранних стадиях ХБП [21] и увеличиваются с прогрессированием заболевания [22].

Адипсин, также называемый фактором комплемента D, в основном секретируется адипоцитами, моноцитами и макрофагами. Адипсин поддерживает гомеостаз жировой ткани и увеличивает секрецию инсулина в ответ на глюкозу. Исследования показывают, что при наличии СД2 отмечается снижение уровня адипсина и существует независимая отрицательная связь между адипсином и НОМА-IR [23]. Работы других авторов указывают на прямую взаимосвязь между ожирением, жировой тканью и адипсином [24]. В нашем исследовании встречаемость СД2 типа в зависимости от уровня адипсина в Q_1 и Q_4 не отличалась.

Адипсин связан с различными патофизиологическими процессами, лежащими в основе атеросклероза, включая воспаление низкой степени выраженности, эндотелиальную дисфункцию и липидный обмен [25, 26]. Изучение распространенности АГ в зависимости от уровня адипсина выявило статистически значимое повышение встречаемости АГ в квартиле с высокими значениями данного адипокина. Что касается связи адипсина с нарушениями липидного обмена, то в нашем исследовании встречаемость гиперХС-ЛНП была выше в квартиле с наибольшими показателями адипсина. Встречаемость почечной дисфункции в 2 раза выше в квартиле с наибольшими показателями адипсина, что может быть связано с активацией альтернативного пути комплемента у пациентов с ХБП [27].

Липокалин-2 представляет собой секретируемый гликопротеин, участвующий в широком спектре патофизиологических процессов и энергетического метаболизма. Некоторые исследователи рассматривают липокалин-2 как биомаркер кардиометаболических и хронических заболеваний почек [28–30], хотя имеются противоречивые сообщения об использовании этой молекулы в качестве биомаркера для ранней диагностики или прогноза данных заболеваний [31, 32]. В нашем исследовании распространенность гиперХС-ЛПН, АГ и почечной дисфункции была ассоциирована с высокими уровнями липокалина-2, а распространенность хронического бронхита – со снижением уровня липокалина-2.

Резистин представляет собой полипептид, относящийся к семейству резистиноподобных молекул, группе белков, которые инициируют воспалительные процессы. Резистин у людей в основном вырабатывается макрофагами, гранулоцитами, моноцитами и клетками костного мозга. Уровни резистина повышены при СД2 [33]. Высокие концентрации резистина также встречаются при сердечно-сосудистых осложнениях. S. Niaz и соавт. продемонстрировали прогрессирующее повышение уровня сывороточного резистина у пациентов с гипертонией и ИБС по сравнению с контрольной группой [34].

Механизм, лежащий в основе ассоциации между резистином и артериальной гипертензией, все еще остается невыясненным. Один из возможных механизмов может быть опосредован через TLR4. Считается, что резистин изменяет ренин-ангиотензиновый путь и ремоделирование сосудов [35]. Другим потенциальным механизмом является то, что резистин может снижать экспрессию эндотелиальной синтазы оксида азота и повышать экспрессию эндотелина-1, а также его высвобождение в эндотелиальных клетках человека [36]. В нашем исследовании встречаемость АГ была в 11,7 раза выше в квартиле с высокими уровнями резистина, чем в квартиле с его наименьшими значениями. Изучение распространенности ИБС среди молодых лиц не показало значимой разницы при изучении квартилей с наибольшими и наименьшими значениями резистина.

Наши результаты, полученные относительно распространенности почечной дисфункции, согласуются с данными ряда работ, в которых показано, что высокие концентрации резистина при ХБП обусловлены снижением СКФ и, как следствие, низкой элиминацией резистина через почки [37, 38]. Однако было доказано, что повышенные концентрации резистина связаны с более высоким риском снижения функции почек. Механизм, с помощью которого резистин может ускорить ухудшение функции по-

чек, пока хорошо не известен, но вероятная причина заключается в том, что резистин усиливает синтез провоспалительных цитокинов и усиливает окислительный стресс, который, следовательно, вызывает дисфункцию клубочков [39].

В нашем исследовании распространенность хронического бронхита была высокой в квартиле с наименьшими значениями резистина. О. Pérez-Bautista и соавт. показали, что у пациенток с хронической обструктивной болезнью легких по сравнению с контрольной группой содержание С-пептида, грелина, глюкагонподобного пептида-1 и лептина было выше, а глюкагона и резистина – ниже [40].

ИАП-1, член суперсемейства ингибиторов сериновых протеаз, может вырабатываться различными клетками, такими как тромбоциты, адипоциты, эндотелиальные клетки сосудов, клетки эндометрия и клетки печени. ИАП-1 является одним из самых мощных антифибринолитических белков, который связывается с тканевым активатором плазминогена или активатором плазминогена урокиназного типа, ингибируя их функцию и снижая выработку плазмина. Исследования показывают, что у пациентов с метаболическим синдромом и (или) СД2 концентрации ИАП-1 в плазме повышены, что способствует гипофибринолитической среде [41]. В нашем исследовании распространенность СД2 была в 2 раза выше в квартиле с наибольшими значениями ИАП-1 в сравнении с квартилем с наименьшими значениями. Изучение распространенности почечной дисфункции (СКФ < 90) выявило разницу между первым и четвертым квартилем ИАП-1. В квартиле с наименьшими значениями ИАП-1 встречаемость почечной дисфункции в 2,5 раза выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании мы изучили распространенность некоторых социально значимых терапевтических заболеваний (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, сахарный диабет 2-го типа, хронический бронхит, почечная дисфункция) и такого фактора риска, как гиперхолестеринемия, у молодых людей в возрасте 25–44 лет в зависимости от уровней адипокинов. Из исследованных адипокинов наибольшая частота терапевтических заболеваний была выявлена для липокалина-2 и резистина. Распространенность хронического бронхита ассоциирована с низкими значениями этих адипокинов, а гиперХС-ЛНП, почечная дисфункция и артериальная гипертензия встречались чаще при высоких значениях липокалина-2 и резистина. Встречаемость гиперХС-ЛНП статистически значимо была выше в квартилях с наибольшими значениями всех

исследованных адипокинов. Распространенность ИБС была ассоциирована только с адипонектином.

Дальнейшие исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе эффектов адипокинов, позволят найти комбинированный подход, направленный на восстановление нормальных физиологических уровней адипокинов, что может дать положительный эффект при изученных терапевтических заболеваниях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Fasshauer M., Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2015;36(7):461–470. DOI: 10.1016/j.tips.2015.04.014.
2. Zhao S., Kusminski C.M., Scherer P.E. Adiponectin, leptin and cardiovascular disorders. *Circ. Res.* 2021;128(1):136–149. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.314458.
3. Bielecka-Dabrowa A., Bartłomieczyk M.A., Sakowicz A., Maciejewski M., Banach M. The role of adipokines in the development of arterial stiffness and hypertension. *Angiology.* 2020;71(8):754–761. DOI: 10.1177/0003319720927203.
4. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L. et al. ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal.* 2020;1(1):111–188. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
5. Rydén L., Grant P.J., Anker S.D., Berne C., Cosentino F., Danchin N. et al. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European Heart Journal.* 2013;34(39):3035–3087. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz108.
6. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2020;25(3):3786. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786.
7. Кокосов А.Н. Хронический необструктивный бронхит. *Клиническая медицина.* 1999;1:11–16.
8. Achari A.E., Jain S.K. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18:1321. DOI: 10.3390/ijms18061321.
9. Gariballa S., Alkaabi J., Yasin J., Al Essa A. Total adiponectin in overweight and obese subjects and its response to visceral fat loss. *BMC Endocr. Disord.* 2019;19(1):55. DOI: 10.1186/s12902-019-0386-z.
10. Liu C., Feng X., Li Q., Wang Y., Li Q., Hua M. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2016;86:100–109. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.06.028.
11. Lindberg S., Jensen J.S., Pedersen S.H., Galatius S., Frystyk J., Flyvbjerg A. et al. Low adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes in patients with myocardial infarction. *Diabetes Care.* 2014;37:3003–3008.
12. Kou H., Deng J., Gao D., Song A., Han Z., Wei J. et al. Relationship among adiponectin, insulin resistance and atherosclerosis in non-diabetic hypertensive patients and healthy

- adults. *Clin. Exp. Hypertens.* 2018;40(7):656–663. DOI: 10.1080/10641963.2018.1425414.
13. Kim D.H., Kim C., Ding E.L., Townsend M.K., Lipsitz L.A. Adiponectin levels and the risk of hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension.* 2013;62(1):27–32. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01453.
 14. Doumatey A.P., Bentley A.R., Zhou J., Huang H., Adeyemo A., Rotimi C.N. Paradoxical hyperadiponectinemia is associated with the metabolically healthy obese (MHO) phenotype in African Americans. *J. Endocrinol. Metab.* 2012;2(2):51–65. DOI: 10.4021/jem95W.
 15. Kobayashi H., Ouchi N., Kihara S., Walsh K., Kumada M., Abe Y. et al. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ. Res.* 2004;94(4):27–31. DOI: 10.1161/01.RES.0000119921.86460.37.
 16. Woodward L., Akoumianakis I., Antoniadis C. Unraveling the adiponectin paradox: Novel roles of adiponectin in the regulation of cardiovascular disease. *Br. J. Pharmacol.* 2017;174:4007–4020. DOI: 10.1111/bph.13619.
 17. Wannamethee S.G., Whincup P., Lennon L., Sattar N. Circulating adiponectin levels and mortality in elderly men with and without cardiovascular disease and heart failure. *Arch. Intern. Med.* 2007;167:1510–1517. DOI: 10.1001/archinte.167.14.1510.
 18. McEntegart M.B., Awede B., Petrie M.C., Sattar N., Dunn F.G., Macfarlane N.G. et al. Increase in serum adiponectin concentration in patients with heart failure and cachexia: Relationship with leptin, other cytokines, and B-type natriuretic peptide. *Eur. Heart J.* 2007;28:829–835. DOI: 10.1093/eurheartj/ehm033.
 21. Dornbush S., Aeddula N.R. Physiology, leptin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
 19. Khazaei M., Tahergorabi Z. Leptin and its cardiovascular effects: Focus on angiogenesis. *Advanced Biomedical Research.* 2015;4(1):79. DOI: 10.4103/2277-9175.156526.
 20. Fried S.K., Ricci M.R., Russell C.D., Laferrère B. Regulation of leptin production in humans. *J. Nutr.* 2000;130(12):3127S–3131S. DOI: 10.1093/jn/130.12.3127S.
 21. Katsiki N., Mikhailidis D.P., Banach M. Leptin, cardiovascular diseases and type 2 diabetes mellitus review-article. *Acta Pharmacol. Sin.* 2018;39:1176–1188. DOI: 10.1038/aps.2018.40.
 22. Marchelek-Mysliwicz M., Wisniewska M., Nowosiad-Magda M., Safranow K., Kwiatkowska E., Banach B. et al. Association between plasma concentration of klotho protein, osteocalcin, leptin, adiponectin, and bone mineral density in patients with chronic kidney disease. *Horm. Metab. Res.* 2018;50:816–821. DOI: 10.1055/a-0752-4615.
 23. Wang J.S., Lee W.J., Lee I.T., Lin S.Y., Lee W.L., Liang K.W. et al. Association between serum adiponectin levels and insulin resistance in subjects with various degrees of glucose intolerance. *J. Endocr. Soc.* 2018;3(2):403–410. DOI: 10.1210/js.2018-00359.
 24. Василенко М.А., Кириенкова Е.В., Скуратовская Д.А., Затолокин П.А., МIRONЮК Н.И., Литвинова Л.С. Роль продукции адипина и лептина в формировании инсулинорезистентности у больных абдоминальным ожирением. *Доклады Академии наук.* 2017;475(3):336–341. DOI: 10.7868/S0869565217210228.
 25. Hertle E., Arts I.C., van der Kallen C.J., Feskens E.J., Schalkwijk C.G., Stehouwer C.D. et al. The alternative complement pathway is longitudinally associated with adverse cardiovascular outcomes. *Thromb. Haemost.* 2016;115(2):446–457. DOI: 10.1160/TH15-05-0439.
 26. Song N.J., Kim S., Jang B.H., Chang S.H., Yun U.J., Park K.M. et al. Molecule-induced complement factor D (adipsin) promotes lipid accumulation and adipocyte differentiation. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162228. DOI: 10.1371/journal.pone.0162228.
 27. Jalal D., Renner B., Laskowski J., Stites E., Cooper J., Valente K. et al. Endothelial microparticles and systemic complement activation in patients with chronic kidney disease. *J. Am. Heart Assoc.* 2018;7(14):e007818. DOI: 10.1161/JAHA.117.007818.
 28. Buonafina M., Martinez-Martinez E., Jaisser F. More than a simple biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases. *Clin. Sci. (London).* 2018;132(9):909–923. DOI: 10.1042/CS20171592.
 29. Cabedo Martinez A.I., Weinhäupl K., Lee W.K., Wolff N.A., Storch B., Žerko S. et al. Biochemical and structural characterization of the interaction between the siderocalin NGAL/LCN2 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin/lipocalin 2) and the N-terminal domain of its endocytic receptor SLC22A17. *J. Biol. Chem.* 2016;291(6):2917–2930. DOI: 10.1074/jbc.M115.685644.
 30. Chella Krishnan K., Sabir S., Shum M., Meng Y., Acín-Pérez R., Lang J.M. et al. Sex-specific metabolic functions of adipose lipocalin-2. *Mol. Metab.* 2019;30:30–47. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.09.009.
 31. Chong J.J.H., Prince R.L., Thompson P.L., Thavapalachandran S., Ooi E., Devine A. et al. Association between plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cardiac disease hospitalizations and deaths in older women. *J. Am. Heart Assoc.* 2019;8(1):e011028. DOI: 10.1161/JAHA.118.011028.
 32. Cruz D.N., Gaião S., Maisel A., Ronco C., Devarajan P. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Biomarker of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012;50:1533–1545. DOI: 10.1515/cclm-2012-0307.
 33. Wang L.K., Wang H., Wu X.L., Shi L., Yang R.M., Wang Y.C. Relationships among resistin, adiponectin, and leptin and microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Int. Med. Res.* 2020;48(4):300060519870407. DOI: 10.1177/0300060519870407.
 34. Niaz S., Latif J., Hussain S. Serum resistin: A possible link between inflammation, hypertension and coronary artery disease. *Pak. J. Med. Sci.* 2019;35(3):641–646. DOI: 10.12669/pjms.35.3.274.
 35. Jiang Y., Lu L., Hu Y., Li Q., An C., Yu X. et al. Resistin induces hypertension and insulin resistance in mice via a TLR4-dependent pathway. *Sci. Rep.* 2016;6:22193. DOI: 10.1038/srep22193.
 36. Chen C., Jiang J., Lü J.M., Chai H., Wang X., Lin P.H. et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary ar-

- tery endothelial cells. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010;299(1):H193–201. DOI: 10.1152/ajpheart.00431.2009.
37. Axelsson J., Bergsten A., Qureshi A.R., Heimbürger O., Bárány P., Lönnqvist F. et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney Int.* 2006;69(3):596–604. DOI: 10.1038/sj.ki.5000089.
38. Dan S., Aditya P., Banerjee P., Bal C., Roy H., Banerjee I. Effect of chronic kidney disease on serum resistin level. *Niger J. Clin. Pract.* 2014;17(6):735–738. DOI: 10.4103/1119-3077.144387.
39. Liu G., Deng Y., Sun L., Ye X., Yao P., Hu Y. et al. Elevated plasma tumor necrosis factor- α receptor 2 and resistin are associated with increased incidence of kidney function decline in Chinese adults. *Endocrine.* 2016;52(3):541–549. DOI: 10.1007/s12020-015-0807-3.
40. Pérez-Bautista O., Montaña M., Pérez-Padilla R., Zúñiga-Ramos J., Camacho-Priego M., Barrientos-Gutiérrez T. et al. Women with COPD by biomass show different serum profile of adipokines, incretins, and peptide hormones than smokers. *Respir. Res.* 2018;19(1):239. DOI: 10.1186/s12931-018-0943-4.
41. Vecchiola A., García K., González-Gómez L.M., Tapia-Castillo A., Artigas R., Baudrand R. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and adiponectin are associated with metabolic syndrome components. *Am. J. Hypertens.* 2022;35(4):311–318. DOI: 10.1093/ajh/hpab138.

Вклад авторов

Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Стахнёва Е.М. – концепция и дизайн исследования, интерпретация данных исследования. Щербакова Л.В. – статистическая обработка и анализ данных, корректура статьи. Шрамко В.С. – выполнение биохимических исследований, анализ и интерпретация данных исследования. Садовский Е.В. – формирование базы данных, анализ и интерпретация данных исследования. Худякова А.М., Денисова Д.В. – анализ и интерпретация данных исследования. Рагино Ю.И. – утверждение окончательной версии для публикации.

Информация об авторах

Каштанова Елена Владимировна – д-р биол. наук, доцент, зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, elekastanova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2268-4186>

Полонская Яна Владимировна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, yana-polonskaya@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3538-0280>

Щербакова Лилия Валерьевна – ст. науч. сотрудник, лаборатория клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, 9584792@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9270-9188>

Шрамко Виктория Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, posova@211.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0436-2549>

Стахнёва Екатерина Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, stahneva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0484-6540>

Худякова Алена Дмитриевна – зав. лабораторией генетических и средовых детерминант жизненного цикла человека, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, alene.elene@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-7875-1566>

Садовский Евгений Викторович – мл. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, stinger000@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7350-534X>

Денисова Диана Вахтанговна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатории профилактической медицины, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, denisovadiana@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2470-2133>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, член-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

(✉) **Каштанова Елена Владимировна**, elekastanova@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.08.2023;
одобрена после рецензирования 11.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Клинико-патологические особенности рака толстой кишки в зависимости от dMMR статуса опухоли

Наумов С.С.¹, Крахмаль Н.В.^{1,2}, Тарасов М.Н.², Тараненко М.И.², Удуд Е.В.¹, Колобовникова Ю.В.¹, Вторушин С.В.^{1,2}

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

² Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести клинико-морфологическую оценку особенностей рака толстой кишки (РТК) в зависимости от dMMR/pMMR статуса.

Материалы и методы. В исследование ретроспективно включено 66 пациентов с операбельным РТК T1-4bN0-2bM1, прошедших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Средний возраст больных составил $64,4 \pm 12,8$ года. Всем пациентам выполнено оперативное лечение в объеме гемиколэктомии или резекции кишки, а также интраоперационная резекция отдаленных метастазов при их наличии.

Результаты. Установлено, что у пациентов с РТК и pMMR статусом гематогенные метастазы определялись в 27,3% случаев, в то время как у пациентов с dMMR статусом гематогенные метастазы были обнаружены лишь в 6,1% случаев ($p = 0,021$). Сравнительный анализ опухолей с dMMR и pMMR статусом также позволил установить большую частоту наличия периневральной опухолевой инвазии среди pMMR подгруппы карцином ($p = 0,039$). Признак «опухолевого почкования» был обнаружен как в карциномах с дефицитом белков мисматч репарации (36%), так и в профицитных опухолях (45%). Данный признак был сопряжен с поражением регионарных лимфатических узлов ($p = 0,0017$). Более детальный анализ феномена «опухолевого почкования» показал, что в опухолях с дефицитом белков мисматч репарации преобладал первый тип почкования (Bd1) low grade – низкой степени – (83%), в то время как профицитные опухоли характеризовались преобладанием почкования второго типа (Bd2) – intermediate grade – умеренной степени (33%) и (Bd3) – high grade – высокой степени (26,7%). Феномен «опухолевого почкования» Bd2 и Bd3 был сопряжен с гематогенным метастазированием ($p < 0,001$).

Заключение. Полученные данные демонстрируют различия по таким патоморфологическим параметрам, как периневральная инвазия и степень «опухолевого почкования» в зависимости от dMMR/pMMR статуса карциномы. Данные гистологические параметры в опухолевой ткани также связаны с большей частотой встречаемости отдаленных метастазов у пациентов с карциномами со статусом pMMR в отличие от пациентов с dMMR статусом опухоли.

Ключевые слова: белки системы мисматч репарации, dMMR/pMMR статус, колоректальный рак

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: Наумов С.С., Крахмаль Н.В., Тарасов М.Н., Тараненко М.И., Удуд Е.В., Колобовникова Ю.В., Вторушин С.В. Клинико-патологические особенности рака толстой кишки в зависимости от dMMR статуса опухоли. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):57–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-57-64>.

Clinicopathological features of colon cancer depending on the dMMR status of the tumor

Naumov S.S.¹, Krakhmal N.V.^{1,2}, Tarasov M.N.¹, Taranenko M.I.², Udut E.V.¹, Kolobovnikova Yu.V.¹, Vtorushin S.V.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To conduct a clinical and morphological assessment of the characteristics of colon cancer depending on the dMMR / pMMR status of the tumor.

Materials and methods. A retrospective study included 66 patients with operable colorectal cancer (CRC) (T_{1-4b}N_{0-2b}M₁), who were treated at Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center (NRMC). The average age of the patients was 64.4 ± 12.8 years. All patients underwent hemicolectomy or colon resection, as well as intraoperative resection of distant metastases, if present.

Results. We determined that in CRC patients with pMMR tumors, hematogenous metastases were detected in 27.3% of cases, while in patients with dMMR tumors, hematogenous metastases were detected only in 6.1% of cases ($p = 0.021$). A comparative analysis of dMMR and pMMR tumors also allowed to establish higher frequency of perineural invasion among the pMMR subgroup of carcinomas ($p = 0.039$). The sign of tumor budding was found both in dMMR carcinomas (36%) and in pMMR tumors (45%). This sign was associated with damage to regional lymph nodes ($p = 0.0017$). A more detailed analysis of the tumor budding phenomenon showed that in dMMR tumors, Bd1 low-grade budding (83%) predominated. In pMMR tumors, Bd2 intermediate-grade budding (33%) and Bd3 high-grade budding (26.7%) prevailed. Bd2 and Bd3 tumor budding types were associated with hematogenous metastasis ($p < 0.001$).

Conclusion. The obtained data demonstrate the differences in such pathomorphological parameters as perineural invasion and the degree of tumor budding depending on the dMMR / pMMR status of the tumor. These histologic parameters in tumor tissue are also associated with higher incidence of distant metastasis in patients with pMMR carcinomas as opposed to patients with dMMR tumors.

Keywords: mismatch repair system proteins, dMMR / pMMR status, colon cancer

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. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 9291 of 28.11.2022).

For citation: Naumov S.S., Krakhmal N.V., Tarasov M.N., Taranenko M.I., Udut E.V., Kolobovnikova Yu.V., Vtorushin S.V. Clinicopathological features of colon cancer depending on the dMMR status of the tumor. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):57–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-57-64>.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), рак толстой кишки (РТК) является одним из наиболее распространенных в мире злокачественных новообразований, занимая 5-е место в структуре онкологической заболеваемости. Ко-

личество впервые диагностируемых опухолей среди лиц обоих полов ежегодно составляет более 1 млн, а число летальных исходов превышает 570 тыс. в год [1]. За 2021 г. на территории Российской Федерации (РФ) было зарегистрировано свыше 18 тыс. новых случаев РТК, что составляет 7,1% от всех злокачественных новообразований, а прирост заболеваемо-

сти в период с 2011 по 2021 г. составил 25,3% [2]. Количество летальных исходов среди пациентов с РТК в 2021 г. составило более 23 тыс., в связи с этим данная нозологическая единица занимает 3-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований в РФ [2].

Среди пациентов с верифицированным РТК лишь 30–50% больных достигают 5-летний выживаемости, поскольку заболевание в большинстве случаев выявляется на поздних клинических стадиях [3]. Несмотря на это, в случае диагностики опухоли на ранней стадии (T1-T2N0) 5-летняя выживаемость составляет более 90%. Важно отметить, что среди пациентов со II стадией заболевания частота рецидивов в течение 5 лет крайне вариабельна и составляет от 12 до 38%, при этом у больных с III стадией 5-летняя безрецидивная выживаемость не превышает 50% [3].

Ключевым этапом диагностики РТК является морфологическая верификация диагноза с последующей оценкой патоморфологических признаков. В настоящее время основными показателями являются: размер первичной опухоли, гистологический тип, степень злокачественности, критерии pT и pN, состояние краев резекции и лимфатических узлов, экстрамуральная и перитуморальная сосудистая инвазия, периневральная инвазия, а также оценка инфильтративного фронта опухоли на предмет наличия в нем морфологических проявлений феномена «опухолевого почкования» (tumor budding) [3]. Данный феномен обнаруживается при наличии в инвазивном крае новообразования групп единичных опухолевых клеток (от 2 до 4 клеток в одной почке).

На сегодняшний день в зависимости от количества групп опухолевых клеток в инвазивном крае на одном поле зрения выделяют три подтипа феномена опухолевого почкования: 0–4 почки – Bd1 подтип (low grade); 5–9 почек – Bd2 подтип (intermediate); 10 почек и более – Bd3 подтип (high grade) [4]. В основе указанного феномена лежит механизм эпителиально-мезенхимального перехода [5], который представляет собой процесс изменения клеточного фенотипа с эпителиального на мезенхимальный, что, в конечном итоге, приводит к возможности реализации инвазии опухоли, а также лимфогенному и гематогенному метастазированию. Это коррелирует с неблагоприятным прогнозом течения заболевания при наличии данного морфологического признака в ткани новообразования [6].

Несмотря на существующие патогистологические критерии в процессе диагностики операционного материала для оценки объективного прогноза течения заболевания и формирования индивидуального подхода в лечении, морфологическое исследование

должно быть дополнено результатами молекулярно-генетических методов. Наиболее распространенным и рекомендуемым на сегодняшний день является определение белков дефицита мисматч репарации (dMMR статус опухоли – mismatch repair-deficient) или микросателлитной нестабильности (MSI – microsatellite instability) иммуногистохимическим методом при помощи полимеразной цепной реакции [7, 8]. Согласно клиническим рекомендациям, в том числе Российского общества клинической онкологии RUSSCO, данные методики могут взаимно исключать друг друга, поскольку их конкордантность составляет более 95% при РТК [9].

Стоит отметить, dMMR/MSI статус опухоли в зависимости от клинической стадии заболевания может являться самостоятельным как прогностическим, так и предиктивным фактором ответа на такие лекарственные агенты, как ингибиторы контрольных точек [9], а также на эффективность фторпиримидинов [10], которые являются основными терапевтическими препаратами как послеоперационного лечения, так и последующих линий. Это значительным образом влияет на лечебную тактику ведения пациента как при локальном, так и распространенном опухолевом процессе.

Несмотря на широкое тестирование dMMR/MSI в клинической практике при РКТ, представляет интерес изучение клинико-патологических характеристик первичной опухоли и их сопряженности с параметрами регионарного и отдаленного метастазирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 66 пациентов с диагнозом РТК стадии T1-4bN0-2bM1a. Критерием включения в исследование был гистологически подтвержденный РТК, критерием исключения – факт проведения предоперационной химиотерапии. Объем хирургического лечения соответствовал гемиколэктомии (справа/слева) или радикальной резекции толстой кишки с одномоментным удалением отдаленных метастазов при их наличии. Проводили морфологическое исследование операционного материала с оценкой следующих параметров: гистологический тип опухоли, плотность инфильтрации стромы иммунными клетками (в 10 полях зрения при $\times 400$), наличие признаков лимфоваскулярной и периневральной инвазии, наличие и количество «опухолевых почек» (tumor budding) в инвазивном крае, наличие/отсутствие метастазов в лимфатических узлах клетчатки (не менее 12 регионарных лимфатических узлов).

Микроскопическое исследование осуществляли с помощью светового микроскопа Eclipse Ci-L (Nikon,

Япония). Гистотип и стадию заболевания определяли согласно Гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта ВОЗ (Digestive System Tumours WHO Classification of Tumours Editorial Board, 5th ed. Lyon, 2019). Плотность инфильтрации опухоли иммунными клетками оценивали количественно, результаты переводили в балльную шкалу (1 балл – слабо выраженная инфильтрация, до 300 иммунных клеток; 2 балла – умеренно выраженная инфильтрация, 300–600 клеток; 3 балла – резко выраженная инфильтрация, более 600 клеток).

Оценку феномена «опухолового почкования» проводили по следующей методике: подсчет опухолевых почек в горячих точках (hotspot) инвазивного края опухоли на единицу площади 0,785 мм² (что соответствует объективу ×20 окуляр с диаметром поля зрения 20 мм). Полученные количественные значения также переводили в балльную шкалу, в которой 0–4 почки соответствовали Bd1 подтипу (low grade); 5–9 почек – Bd2 подтипу (intermediate); 10 почек и более – Bd3 подтипу (high grade). Оценку dMMR статуса карциномы проводили на парафиновых срезах опухолевой ткани (операционный материал) с при-

менением метода иммуногистохимии. Окрашивание выполняли на автоматическом иммуногистостейнере Bond RX (Leica Biosystem) с использованием антител MLH1 (Clone ES05, RTU, Dako An Agilent Technologies Company, RTU), MSH2 (Clone FE1, RTU, Dako An Agilent Technologies Company), MSH6 (Clone EP49, RTU, Dako An Agilent Technologies Company), PMS2 (Clone EP51, RTU, Dako An Agilent Technologies Company) (рис. 1–3). В случае отсутствия ядерного иммуногистохимического окрашивания хотя бы одного маркера диагностировали дефицит белков mismatch репарации (опухоль с микросателлитной нестабильностью – dMMR статус). В группе исследования в 16,67% случаев ($n = 11/66$) были обнаружены отдаленные метастазы, наличие метастатического поражения и количество лимфатических узлов с метастазами (N) представлены в таблице.

Статистический анализ данных выполнен при помощи пакета программ SPSS 23.0 (IBM SPSS Statistics, США). Описание количественных показателей проводили с указанием медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$.

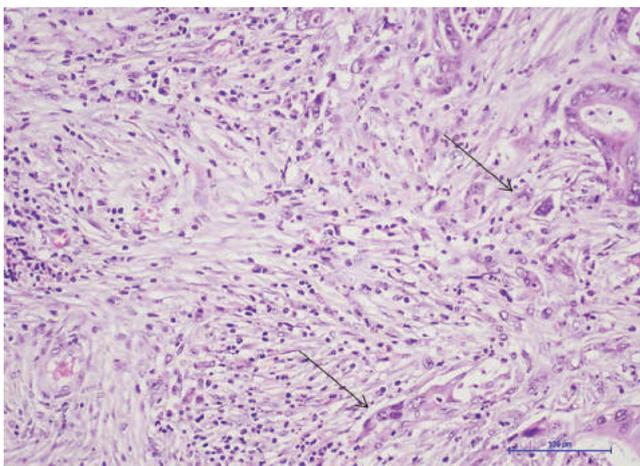


Рис. 1. Tumor budding на границе инвазивного фронта опухоли (отмечено стрелками) аденокарциномы толстой кишки. Здесь и на рис. 2: окраска гематоксилином и эозином, ×200

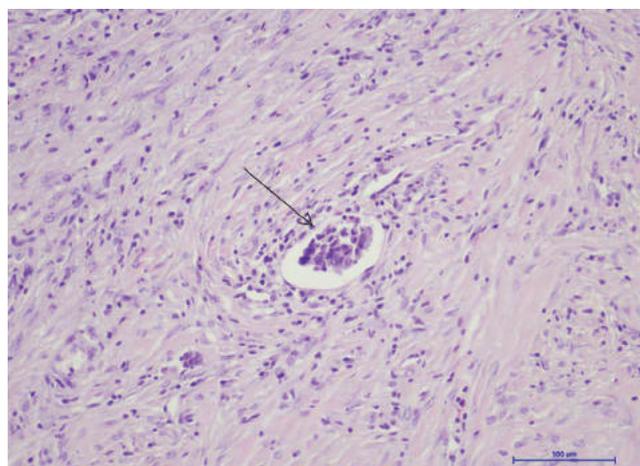


Рис. 2. Лимфоваскулярная инвазия (стрелкой отмечен опухолевый эмбол в просвете сосуда)

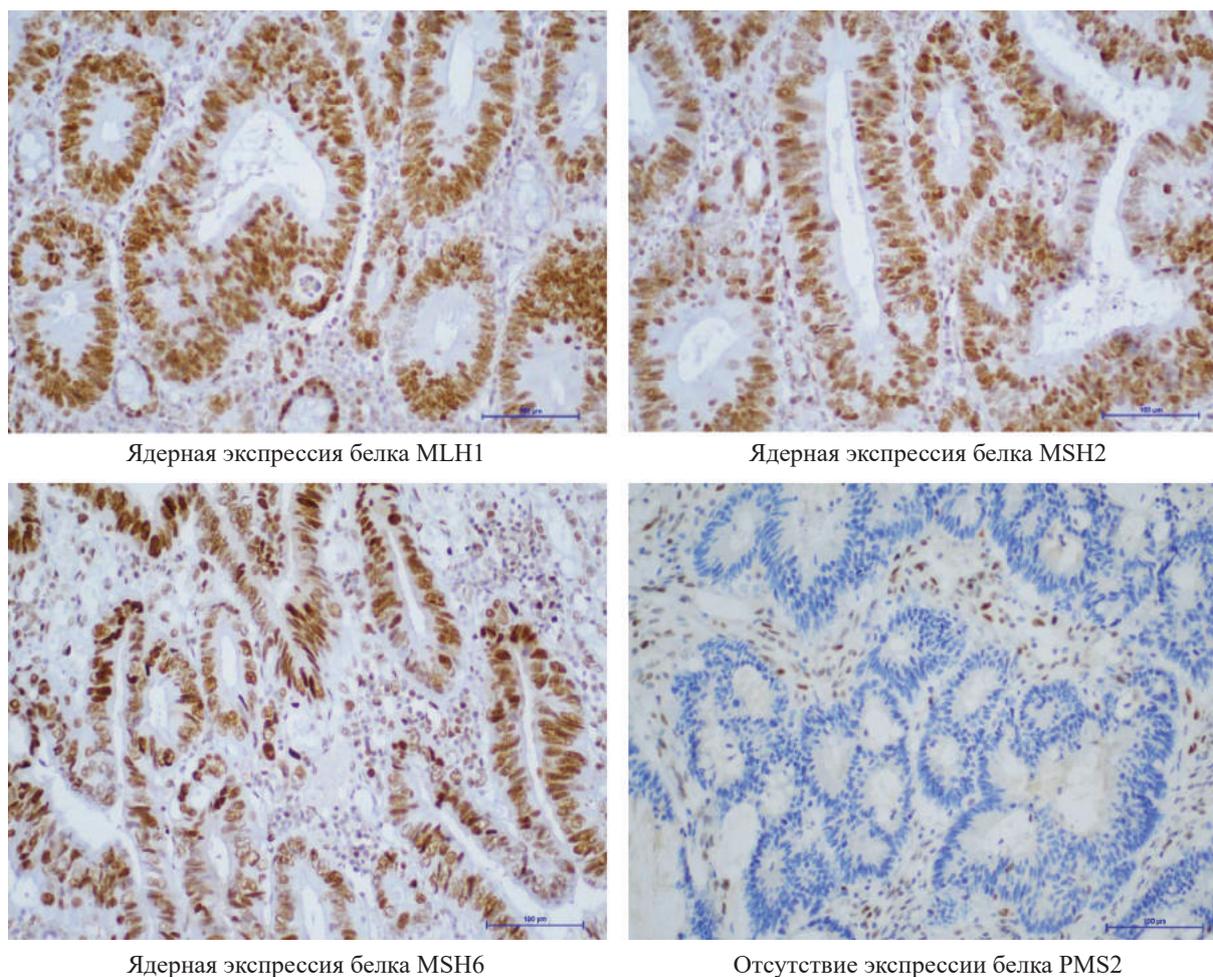


Рис. 3. Иммуногистохимическое определение dMMR статуса

Качественные показатели описывали с указанием абсолютных и относительных частот n (%). Сравнение количественных и качественных показателей независимых выборок проводили с использованием U -критерия Манна – Уитни и критерия χ^2 . Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Были сформированы две группы пациентов в зависимости от иммуногистохимически верифицированного dMMR/pMMR статуса новообразования. В первую группу вошли 50% случаев ($n = 33/66$) с дефицитом белков мисматч репарации (dMMR статус) в опухоли. Равное число случаев (50%; $n = 33/66$) включено в группу контроля – опухоли с профицитом белков мисматч репарации (pMMR статус). Оценка наличия взаимосвязей в выделенных группах с гистотипом опухоли, локализацией новообразования в толстой кишке и стадией заболевания не показала наличия статистически значимых различий (см. таблицу). Сравнительный анализ случаев с на-

личием лимфогенных метастазов в обозначенных выше группах dMMR/pMMR опухолей также не выявил статистически значимых различий, не было обнаружено различий и в показателе количества лимфатических узлов с наличием метастазов.

Далее была проведена оценка взаимосвязи между dMMR/pMMR статусом карциномы и наличием гематогенных метастазов. Результаты анализа позволили установить, что в группе пациентов, у которых статус опухоли толстой кишки соответствовал критериям dMMR, гематогенные метастазы были обнаружены в 6,1% случаев ($n = 2/11$), при этом в случаях с pMMR карциномами метастазы в отдаленные органы были выявлены в 27,3% случаях ($n = 9/11$) ($\chi^2 = 5,3$; $p = 0,02$) (рис. 4). В результате данной работы не установлено наличия статистически значимых различий между dMMR/pMMR статусом и плотностью инфильтрации опухоли иммунными клетками (см. таблицу).

В исследовании при оценке такого морфологического параметра, как феномен «почкования» в инвазивном крае опухоли, установлено его наличие в

обеих группах, однако статистически значимые различия были выявлены между подтипами опухолевого почкования ($\chi^2 = 6,0; p < 0,04$). Так, в карциномах кишки, имеющих dMMR статус, с наличием морфологических проявлений феномена «опухолевого

почкования» в зоне инвазивного края обнаружены подтипы Vd1 ($n = 10$) и Vd2 ($n = 2$). В других новообразованиях с дефицитом белков мистматч репарации морфологических проявлений данного феномена не обнаружено ($n = 21$).

Таблица

Клинические данные и морфологические параметры опухоли у пациентов группы исследования с раком толстой кишки							
Параметр		dMMR		pMMR		Значение критерия	P
n		%	n	%	n		
Пол	мужчины	23	69,7	19	57,6	1,048	0,433
	женщины	10	30,3	14	42,4		
Возраст, лет, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)		63 (54,5; 63) 63,3 ± 13,5		66 (59,5; 74) 65,6 ± 12,1		481,5	0,419
Гистотип опухоли	аденокарцинома high grade	10	30,3	9	27,3	0,635	0,728
	аденокарцинома low grade	14	42,4	12	36,4		
	аденокарцинома муцинозная	9	27,3	12	36,4		
Локализация опухоли	слепая кишка	5	15,2	3	9,1	10,094	0,183
	восходящая ободочная кишка	6	18,2	3	9,1		
	печеночный изгиб	4	12,1	4	12,1		
	поперечная ободочная кишка	2	6,1	2	6,1		
	селезеночный изгиб	4	12,1	2	6,1		
	нисходящая ободочная кишка	5	15,2	1	3,0		
	сигмовидная кишка	6	18,2	17	51,5		
	ректосигмоидный отдел кишки	1	3,0	1	3,0		
Стадия заболевания (критерий T)	T2	5	15,2	1	3,0	4,333	0,228
	T3	6	18,2	8	24,2		
	T4a	19	57,6	23	69,7		
	T4b	3	9,1	1	3,0		
Лимфогенные метастазы (критерий N)	N0	17	51,5	15	45,5	3,869	0,568
	N1a	6	18,2	3	9,1		
	N1b	2	6,1	1	3,0		
	N1c	1	3,0	4	12,1		
	N2a	3	9,1	5	15,2		
Плотность инфильтрации опухоли иммунными клетками	слабо выраженная	6	18,2	3	9,1	1,310	0,519
	умеренно выраженная	13	39,4	16	48,5		
	резко выраженная	14	42,4	14	42,4		
Сторона поражения	правая половина	17	51,5	13	39,4	0,978	0,459
	левая половина	16	48,5	20	60,6		



Частота наличия отдаленных метастазов у больных РТК в зависимости от dMMR/pMMR статуса первичной опухоли

Среди случаев другой группы, в которой карциномы толстой кишки были определены как опухоли с рMMR статусом, наряду с Bd1 ($n = 6$) и Bd2 ($n = 5$) подтипами был выявлен также и Bd3 подтип ($n = 4$), в инвазивном крае других опухолей ($n = 18$) проявления данного феномена не обнаружены. Дополнительно проведенный анализ полученных результатов позволил установить, что карциномы толстой кишки с Bd2 и Bd3 подтипами опухолевого почкования характеризовались наличием гематогенных метастазов ($\chi^2 = 17,2; p < 0,001$). Оценка перинеуральной опухолевой инвазии позволила выявить, что среди опухолей толстой кишки с dMMR статусом данный морфологический признак определяется статистически значимо реже по сравнению с рMMR карциномами ($\chi^2 = 4,2; p = 0,03$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования установлено, что при РТК различные клинико-морфологические характеристики могут быть одновременно присущи как опухолям с дефицитом белков мисматч репарации (dMMR статус), так и карциномам с профицитом белков мисматч репарации (рMMR статус). В данной работе обнаружен ряд отличий, которые могут определять характер течения заболевания. Так, сравнительный анализ dMMR и рMMR карцином толстой кишки в зависимости от морфологии опухоли и ее локализации не показал наличия статистически значимых различий. Наиболее важными морфологическими признаками, которые были характерны для карцином с дефицитом белков мисматч репарации, являются более редкая частота перинеуральной инвазии, а также преобладание Bd1 и Bd2 подтипов феномена опухолевого почкования.

В проанализированном объеме литературы не обнаружено описания подобных морфологических характеристик в зависимости от молекулярного статуса опухоли в случаях РТК. Наиболее показательным параметром, который нами был установлен, является низкий гематогенный метастатический потенциал опухолей с dMMR статусом в сравнении с рMMR карциномами. Одной из причин, объясняющей обнаруженную взаимосвязь, может являться различное биологическое поведение опухолей, обусловленное отличиями в объеме мутационной нагрузки [10]. В пользу данной гипотезы свидетельствует и тот факт, что статистически значимых различий в плотности опухолевого иммунного инфильтрата, который, согласно одной из существующих версий, обладает супрессивным опухолевым воздействием, между dMMR и рMMR карциномами не обнаружено [11, 12].

Вероятно, можно предположить, что dMMR статус опухоли и сопряженные с ним такие морфологические параметры, как низкая частота перинеуральной инвазии и преобладание первого Bd1 подтипа опухолевого почкования, являются взаимосвязанными и объясняют более низкий метастатический потенциал. Необходимо отметить, что потенциально определенными косвенными морфологическими параметрами, которые могут свидетельствовать о dMMR статусе опухоли толстой кишки, можно считать отсутствие в ткани новообразования признаков перинеуральной инвазии и проявлений третьего Bd3 подтипа опухолевого почкования в зоне инвазивного края, а также отсутствие признаков гематогенного метастазирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные демонстрируют наличие морфологических различий в ткани первичной опухоли при карциномах толстой кишки в зависимости от dMMR/рMMR молекулярного статуса новообразования. На основании полученных результатов можно предположить, что определенные гистологические параметры, в частности наличие перинеуральной инвазии и преобладание в зоне инвазивного края разных особых подтипов феномена опухолевого почкования, могут быть ассоциированы с частотой гематогенного метастазирования и, соответственно, могут выступать в качестве прогностического критерия при РТК с иммуногистохимически подтвержденным dMMR либо рMMR молекулярным статусом карциномы толстой кишки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). М., 2022:250.
3. Argilés G., Tabernero J., Labianca R., Hochhauser D., Salazar R., Iveson T. et al. ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Localised colon cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2020;31(10):1291–1305. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.06.022.
4. Watanabe T., Itabashi M., Shimada Y., Tanaka S., Ito Y., Ajioka Y. et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int. J. Clin. Oncol.* 2015;20(2):207–239. DOI: 10.1007/s10147-015-0801-z.
5. Trinh A., Lädach C., Dawson H.E., Ten Hoorn S., Kuppen P.J.K., Reimers M.S. et al. Tumour budding is associated with the

- mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data. *Br. J. Cancer*. 2018;119(10):1244–1251. DOI: 10.1038/s41416-018-0230-7.
6. Basile D., Broudin C., Emile J.F., Falcoz A., Pagès F., Mineur L. et al. For PRODIGE investigators, GERCOR, Fédération Française de Cancerologie Digestive, and UNICANCER. Tumor budding is an independent prognostic factor in stage III colon cancer patients: a post-hoc analysis of the IDEA-France phase III trial (PRODIGE-GERCOR). *Ann. Oncol.* 2022;33(6):628–637. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.03.002.
 7. Eso Y., Shimizu T., Takeda H., Takai A., Marusawa H. Microsatellite instability and immune checkpoint inhibitors: toward precision medicine against gastrointestinal and hepatobiliary cancers. *J. Gastroenterol.* 2020;55(1):15–26. DOI: 10.1007/s00535-019-01620-7.
 8. Battaglin F., Naseem M., Lenz H.J., Salem M.E. Microsatellite instability in colorectal cancer: overview of its clinical significance and novel perspectives. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* 2018;16(11):735–745.
 9. Bromham N., Kallioinen M., Hoskin P., Davies R.J. Guideline Committee. Colorectal cancer: summary of NICE guidance. *BMJ*. 2020;368:461. DOI: 10.1136/bmj.m461.
 10. Gelsomino F., Barbolini M., Spallanzani A., Pugliese G., Cascinu S. The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review. *Cancer Treat Rev.* 2016;51:19–26. DOI: 10.1016/j.ctrv.2016.10.005.
 11. Федянин М.Ю., Гладков О.А., Гордеев С.С., Карачун А.М., Козлов Н.А., Мамедли З.З. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки, ректосигмоидного соединения и прямой кишки. Злокачественные опухоли: *Практические рекомендации RUSSCO* № 3(2). 2022;(12):401–454.
 12. Yang G., Zheng R.Y., Jin Z.S. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2019;145(12):2891–2899. DOI: 10.1007/s00432-019-03053-4.
 13. Lin A., Zhang J., Luo P. Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front. Immunol.* 2020;11:2039. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02039.
 14. Smyth E.C., Wotherspoon A., Peckitt C., Gonzalez D., Hulkki-Wilson S., Eltahir Z. et al. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. *JAMA Oncol.* 2017;3(9):1197–1203. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.6762.

Вклад авторов

Наумов С.С., Крахмаль Н.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проведение морфологического и иммуногистохимического исследования. Тарасов М.Н., Тараненко М.И., Колобовникова Ю.В. – набор материала, работа с архивом, анализ литературы. Удут Е.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Вторушин С.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Наумов Сергей Сергеевич – врач-патологоанатом, клиники СибГМУ; аспирант, ассистент, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, serg.nau2011@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3868-2310>

Крахмаль Надежда Валерьевна – канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; доцент кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, krakhmal@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1909-1681>

Тарасов Михаил Николаевич – аспирант, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, mih.n.tarasov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3878-2290>

Тараненко Мария Игоревна – врач-патологоанатом, отделение общей молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; аспирант, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, doctor.mariya.14@gmail.com, <http://orcid.org/0009-0003-9848-8058>

Удут Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, lab.cni@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6104-4782>

Колобовникова Юлия Владимировна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, профессор кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, kolobovnikova.julia@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7156-2471>

Вторушин Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, wtorushin@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

(✉) **Наумов Сергей Сергеевич**, e-mail serg.nau2011@gmail.com

Поступила в редакцию 05.09.2023;
одобрена после рецензирования 13.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

УДК 57.083.3:547.474.64:615.273.015.44
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-65-72>



Иммуномодулирующее действие литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты *in vitro*

Плотников Е.В.^{1,2}, Третьякова М.С.^{1,3}, Кривошеков С.В.⁴, Колобовникова Ю.В.⁴, Белоусов М.В.^{1,4}

¹ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

² Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634021, г. Томск, ул. Алеутская, 4

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

⁴ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение иммуномодулирующих свойств литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты (LiAc) на нормальные лейкоциты крови и злокачественные лейкозные клетки *in vitro*.

Материалы и методы. В качестве тест-систем использованы лимфоциты и нейтрофилы периферической крови здоровых доноров, а также злокачественные клетки линии ТНР-1 (моноцитарная лейкопения человека). Для оценки пролиферативной активности использовалась реакция бластной трансформации лимфоцитов. Изучение антипролиферативного действия выполнено методом включения меченого 3H-тимидина. Цитотоксические эффекты препарата исследованы с помощью аламарового теста. Изучение влияния на фагоцитарную активность выполнено с помощью метода оценки функциональной активности нейтрофилов при фагоцитозе бактерий.

Результаты. LiAc оказал дозозависимое влияние на клетки-мишени, что проявилось в антипролиферативном и цитотоксическом действии в отношении лейкозных клеток и стимулирующем действии в отношении фагоцитирующих нейтрофилов.

Заключение. LiAc может рассматриваться как перспективный препарат, обладающий иммуномодулирующими свойствами, включая супрессивное влияние на пролиферативную активность лейкозных клеток и стимулирующее действие на нейтрофильно-макрофагальное звено иммунитета.

Ключевые слова: соли лития, иммуностимулятор, нейтрофилы, лимфоциты, моноцитарный лейкоз, антипролиферативный эффект, фагоцитоз

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.

✉ Плотников Евгений Владимирович, plotnikov.e@mail.ru

Для цитирования: Плотников Е.В., Третьякова М.С., Кривошеков С.В., Колобовникова Ю.В., Белоусов М.В. Иммуномодулирующее действие литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):65–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-65-72>.

Immunomodulatory effect of lithium salt gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid *in vitro*

Plotnikov E.V.^{1,2}, Tretyakova M.S.^{1,3}, Krivoshchekov S.V.⁴, Kolobovnikova Y.V.⁴, Belousov M.V.^{1,4}

¹ National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Science
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634021, Russian Federation

³ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

⁴ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this work was to study the immunomodulatory effects of lithium salt gamma-lactone of 2,3-dehydro-L-gulonic acid (LiAc) on healthy blood leukocytes and leukemia cells *in vitro*.

Materials and methods. Peripheral blood lymphocytes and neutrophils obtained from healthy donors, as well as THP-1 cells (human monocytic leukemia) were used as test systems. To assess the proliferative activity, lymphocyte blast transformation was used. The antiproliferative effect was studied by the 3H-thymidine incorporation assay. Cytotoxic effects were studied using the Alamar Blue test. The effect on the phagocytic activity was studied using the method for assessing the neutrophil function during bacterial phagocytosis.

Results. LiAc exerted a dose-dependent effect on target cells, including antiproliferative and cytotoxic effects on leukemia cells and a stimulating effect on neutrophils in phagocytosis.

Conclusion. LiAc can be considered as a promising drug with immunomodulatory effects, including a suppressive effect on the proliferative activity of leukemia cells and a stimulating effect on immune mechanisms mediated by neutrophils and macrophages.

Keywords: lithium salts, immunostimulant, neutrophils, lymphocytes, monocytic leukemia, antiproliferative effect, phagocytosis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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: Plotnikov E.V., Tretyakova M.S., Krivoshchekov S.V., Kolobovnikova Y.V., Belousov M.V. Immunomodulatory effect of lithium salt gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):65–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-65-72>.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система человека представляет собой сложный саморегулируемый механизм, обеспечивающий специфическую и неспецифическую защиту

как от внешних патогенов, так и от внутренних угроз, в том числе злокачественных клеток. При этом эффективный иммунный ответ подразумевает известный баланс иммунной активации для элиминации антигена и иммуносупрессии, предотвращающей

повреждение собственных здоровых тканей. Этот баланс поддерживается взаимодействием макрофагов, регуляторных Т-клеток, индукцией хемокинов, цитокинов, антител, экспрессией соответствующих рецепторов, процессов ингибирования и пролиферации эффекторных клеток.

Таким образом, здоровое функционирование иммунитета поддерживается внутренними иммуностимулирующими и иммуносупрессивными механизмами [1]. Обеспечить внешнее регулирующее влияние на иммунитет – сложная задача, и в настоящее время достигается применением иммуномодуляторов, т.е. препаратов, которые могут стимулировать, ингибировать или регулировать компоненты, или изменять функции иммунной системы [2]. Соединения, обладающие иммуностимулирующим или иммуносупрессивным действием, могут относиться к разным химическим группам и иметь различные биологические мишени. Главным образом, иммуномодулирующие эффекты реализуются через влияние на иммунокомпетентные клетки, процессы созревания, миграции, кооперации, а также взаимодействие этих клеток и их продуктов (цитокинов) с соответствующими мишенями [3].

Многие ксенобиотики и химические соединения обладают однонаправленным иммунотоксическим действием, что проявляется негативным воздействием на функционирование как местного, так и системного иммунитета, а индуцированная иммуносупрессия может привести к увеличению заболеваемости или тяжести инфекционных и онкологических заболеваний [4]. Поэтому изучение иммуномодулирующих свойств перспективных биологически активных соединений является неотъемлемым этапом при разработке новых лекарственных средств на их основе. Вещество, действующее на клеточный иммунитет *in vitro*, при этом будет оказывать комплексное неспецифическое действие на всю иммунную систему в целом из-за высокой взаимосвязанности компонентов.

Значительное количество иммуностимуляторов доступно в настоящее время в качестве пищевых добавок. Однако оценки их влияния на реальный иммунный статус весьма противоречивы. Далеко не для всех иммуностимуляторов выполнены тесты с иммунокомпетентными клетками. Особенно сложно проводить оценки влияния различных растительных стимуляторов ввиду высокой вариабельности состава и сложностей выявления действующего агента [5].

Таргетная иммуностимуляция является одним из перспективных подходов к терапии онкозаболеваний, при этом неспецифическая иммуностимуляция рассматривается в качестве поддерживающей терапии [6]. В целом иммунотерапия является наиболее

многообещающим подходом к лечению рака и хорошо сочетается с химиотерапией и иммуностимуляторами для улучшения результатов лечения [7]. Иммуномодуляторы в настоящее время являются важным компонентом для лечения коморбидных патологий, что улучшает прогноз основного заболевания. В последнее время показано, что дисрегуляция иммунной системы может способствовать опухолевой прогрессии [8]. Очевидно, что для эффективной иммунокоррекции требуются препараты, обладающие низкой токсичностью, комплексным иммуномодулирующим действием и хорошо сочетающиеся с известными методами лечения опухолей, в том числе химиотерапией и лучевой терапией.

В данном контексте препараты лития выгодно выделяются ввиду наличия известного иммунотропного компонента действия. Например, карбонат лития широко применяется в психиатрической практике, до сих пор являясь золотым стандартом терапии аффективных расстройств, при этом обладая выраженными иммуностимулирующими свойствами [9, 10]. Литий обладает стимулирующими свойствами в отношении гемопоэза, таким образом является препаратом для восстановления организма после лучевого воздействия [11, 12]. Основной молекулярной мишенью, объясняющей гемопоэтическое действие лития, является воздействие на внутриклеточный фермент гликогенсинтазакиназа-3 (GSK-3) [13].

Изучались роль и позитивные эффекты лития в терапии раковых пациентов, в том числе после лучевого воздействия [14]. Важно отметить способность лития активировать противовирусный иммунитет [15]. В ходе пандемии новой коронавирусной инфекции в 2020–2021 гг. показана эффективность литиевых препаратов в терапии данного заболевания [16]. Совокупность этих данных создает серьезную основу для углубленного изучения механизмов действия лития и поиск новых ниш его применения, в том числе создание новых литийсодержащих соединений с комплексными свойствами [17].

Однако отметим, что в патогенезе многих социально значимых патологий человека серьезную роль играют окислительные нарушения [18–20]. Окислительный стресс – это фундаментальное явление в биологии, вызывающее целый каскад реакций [21]. Установлено влияние окислительного стресса при аутоиммунных, психических, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваниях, поэтому коррекция окислительного стресса приемом препаратов-антиоксидантов во многих случаях клинически оправдана [20]. В данном контексте важно получение и изучение свойств новых комплексов лития с антиоксидантной активностью в отношении иммуно-

компетентных клеток, что открывает определенные перспективы в получении препаратов с сочетанной активностью, позволяющих корректировать иммунитет и снижать окислительные нарушения при широком спектре патологий [22–24].

Целью настоящей работы стало исследование влияния литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-*L*-гулоновой кислоты (LiAc) на пролиферативную и функциональную активность нормальных лейкоцитов крови и лейкозных клеток как основа для создания перспективного препарата антиоксиданта с иммуномодулирующей активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза объекта исследования использовали гамма-лактон 2,3-дегидро-*L*-гулоновую кислоту (аскорбиновую кислоту) и карбонат лития (марка ACS, Sigma-Aldrich, Германия). Реакцию получения соли проводили при нагревании до 40 °С в деионизированной воде при перемешивании. Продукт реакции промывали и стерилизовали этанолом, затем сушили. Подлинность соединения подтверждалась методами атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС с индуктивно-связанной плазмой iCap 6300 Duo), инфракрасной спектроскопии (Agilent Cary), термогравиметрического анализа (термоанализатор с масс-спектрометрией SDQT 600, Thermo Electron Corp.). Элементным анализом найдено 33% (С), 5,33% (Н), 8,1% (Li₂O); теоретически вычислено 33,03% (С), 5,05% (Н), 8,21% (Li₂O). Содержание воды в соли составило 16,15% (теоретическое – 16,51%). Продукт реакции соответствовал общей формуле LiC₆H₇O₆·2H₂O. Полученный порошок упаковывали в герметичные пробирки и использовали в экспериментах.

Изучение влияния синтезированного препарата лития на иммунные клетки крови человека проведено *in vitro* в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Метод основан на оценке трансформации и пролиферации лимфоцитов при воздействии на них различных антигенов и митогена фитогемагглютинина (ФГА). Лимфоциты получены из препаратов цельной крови здоровых доноров. Лимфоциты выделяли градиентным центрифугированием и ресуспендировали на стандартной среде RPMI 1640, содержащей 20% эмбриональной бычьей сыворотки, *L*-глутамин, стрептомицин. Аликвоты по 0,1 мл (2×10^6 клеток/мл) смеси клеток помещали в микрокультуральные планшеты. Препарат добавляли в планшет в концентрациях 0,1 мг/мл – 0,001 мг/мл с ФГА или без него. Культуральные планшеты инкубировали в течение 72 ч при 37 °С в атмосфере 5%-й CO₂. В качестве положительного

контроля использовали стимуляцию ФГА, индуцирующего пролиферативный ответ клеток. Для этого мононуклеары (2×10^5 клеток на лунку) в культуральной среде вносили в лунки 96-луночного плоскодонного планшета в присутствии ФГА (конечная концентрация – 15 мкг/мл). Клетки инкубировали аналогично опытной группе 72 ч при 37 °С с 5%-й CO₂.

В последние 24 ч процесса культивирования в каждую лунку опытной и контрольной групп добавляли по 1 мКи [3H]-тимидина. Клетки собирали на фильтры из стекловолна (Seaton, Ind. Sterling, VA) и определяли количество включенного [3H]-тимидина с помощью жидкостного сцинтилляционного β-счетчика (Delta 300, model 6891, TM Analytic Inc., Netherlands).

Фагоцитарную активность нейтрофилов изучали методом фагоцитоза [25]. Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов гепаринизированную венозную кровь отмывали средой 199 путем центрифугирования проб. В качестве фагоцитарного субстрата использовали грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* – H209. В суспензию лейкоцитов добавляли бактерии. Исследуемое соединение добавляли в микрокультуральные планшеты в различной концентрации (0,1–0,001 мг/мл). Образцы помещали на 30 мин в инкубатор и встряхивали каждые 10 мин. После инкубации клетки фиксировали формалином. Затем центрифугировали, чтобы сделать мазок с параметром, определяющим фагоцитоз. Мазки окрашивали по Романовскому – Гимзе и подсчитывали следующие показатели. Процент активных нейтрофилов рассчитывали как количество нейтрофилов, положительных на *S. aureus* в пересчете на 100 нейтрофилов. Поглотительную способность нейтрофилов характеризовали через фагоцитарное число, которое рассчитывали как общее число клеток *S. aureus*, поглощенных на 100 положительных нейтрофилов и деленное на 100, что дает среднее число микробов, поглощенное одним активным нейтрофилом.

В эксперименте использовали линию клеток моноцитарного лейкоза ТНР-1 в концентрации 2×10^5 клеток на лунку в полной культуральной среде RPMI 1640, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки, *L*-глутамин, и антибиотики. Клетки вносили в лунки 96-луночных планшетов с плоским дном в 100 мкл среды. После этого вносили LiAc в диапазоне доз от 0,1 до 0,001 мг/мл. Затем в каждую лунку добавляли по 1 мКи [3H]-тимидина. Клетки инкубировали в течение 24 ч при 37 °С с 5%-й CO₂. Клетки собирали на фильтры из стекловолна (Seaton, Ind. Sterling, VA) и определяли количество включенного [3H]-тимидина с помощью жидкостного сцинтилляционно-

го β-счетчика (Delta 300, model 6891, TM Analytic Inc., Netherlands).

В качестве биологического объекта для клеточных тестов на цитотоксичность *in vitro* использовали моноцитарного лейкоза линии ТНР-1 и нормальные мононуклеарные клетки периферической крови человека. Цитотоксичность исследуемого препарата оценивали на клеточных культурах с использованием аламарового теста. Клетки культивировали в полной среде RPMI 1640, обогащенной эмбриональной бычьей сывороткой, L-глутамином и антибиотиками, и высевали в 96-луночный планшет по 20 тыс. клеток на лунку (в 180 мкл среды). Затем в каждую лунку добавляли препарат в соответствующей концентрации (в диапазоне доз 0,1–0,001 мг/мл). Дополнительные лунки использовали для необработанного контроля (отрицательный контроль) и контроля мертвых клеток (положительный контроль). Затем планшет помещали в инкубатор с 5%-й CO₂ и температурой 37 °С. Через 48 ч инкубации в каждую лунку добавляли по 20 мкл реагента Alamar Blue. Планшет снова помещали в инкубатор на 4 ч. Затем измеряли оптическую плотность при 570 нм (с вычитанием фона при 620 нм). Жизнеспособность клеток оценивали по формуле (ОП образца – ОП положительного контроля)/(ОП отрицательного контроля – ОП положительного контроля) и выражали в процентах от выживших клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение интенсивности бластной трансформации лимфоцитов после внесения в культуру клеток LiAc позволило установить наличие супрессивного влияния препарата на лимфопролиферацию в зависимости от концентрации. Так, доза 0,1 мг/мл оказала достоверное ингибирование клеточной пролиферации более чем на 60% от контрольной группы (рис. 1).

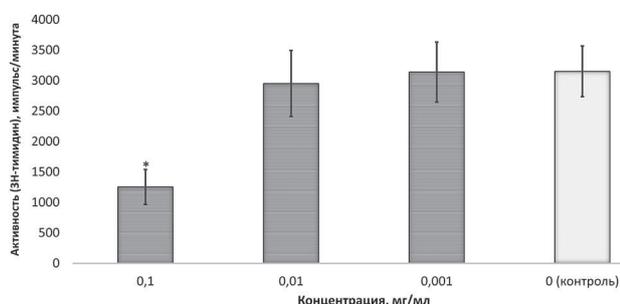


Рис. 1. Влияние LiAc на ФГА-стимулированную пролиферацию лимфоцитов (по включению 3H-тимидина (имп/мин)). Здесь и на рис. 2, 3 данные представлены как $M \pm SD$. * достоверное отличие от контроля, $p \leq 0,05$

Изучение влияния препарата на функциональную активность нейтрофильных лейкоцитов периферической крови доноров проведено на модели незавершенного фагоцитоза. Результаты исследований влияния препарата на фагоцитарную активность представлены в таблице.

Таблица

Влияние LiAc на фагоцитарную активность нейтрофилов, $M \pm SD$				
Показатель	Контроль	0,1 мг/мл	0,01 мг/мл	0,001 мг/мл
Процент активных нейтрофилов, %	56 ± 3	61 ± 4	67 ± 5*	55 ± 4
Поглотительная способность нейтрофилов, бак. ед.	4,2 ± 0,2	4,9 ± 0,2*	5,1 ± 0,5*	4,2 ± 0,3

Примечание. Достоверное отличие от контроля, $p \leq 0,05$.

Из материалов таблицы 1 видно, что после воздействия LiAc повышается процент активных нейтрофилов, способных фагоцитировать стафилококки на 15–20%, и в таких же пределах возрастает поглотительная способность нейтрофилов в диапазоне доз 0,1–0,01 мг/мл.

Как видно из таблицы 1, LiAc не оказывает существенного влияния на фагоцитарную активность во всех дозировках, но показатель полноты фагоцитоза в низких концентрациях несколько увеличивается. Повышается процент активных нейтрофилов. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии угнетающего действия на фагоцитирующие клетки крови в этом диапазоне доз.

Результаты оценки цитотоксического действия препарата на лейкозные клетки ТНР-1 показаны на рис. 2.

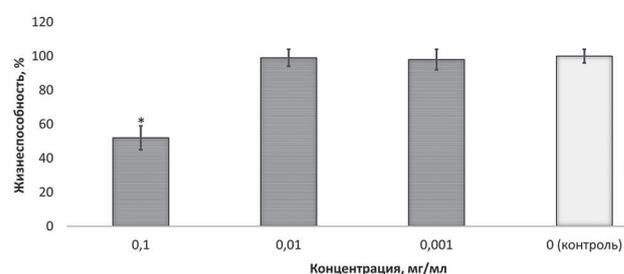


Рис. 2. Цитотоксического действия LiAc на лейкозные клетки ТНР-1

Результаты оценки антипролиферативного действия LiAc на лейкозные клетки показаны на рис. 3. Исследование биоактивности на модели лейкозных клеток ТНР-1 позволило подтвердить наличие антипролиферативного действия препарата.

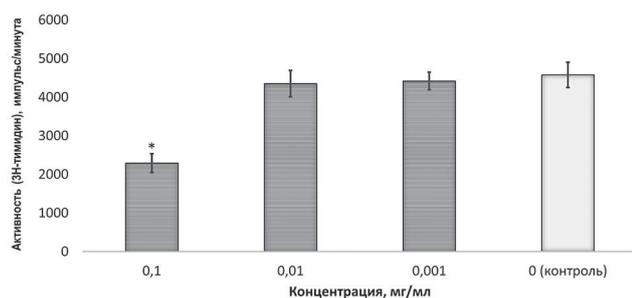


Рис. 3. Влияние LiAc на пролиферативную активность клеток линии THP-1 по включению 3H-тимидина (имп/мин)

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты выявили заметное антипролиферативное влияние препарата на ФГА-стимулированные лимфоциты в реакции РБТЛ (см. рис. 1). Влияние на лимфоциты достоверно отмечено в высоких дозировках 0,1 мг/мл. Антипролиферативное действие на митоген-стимулированной популяции лимфоцитов под влиянием испытуемого препарата коррелирует с ранее показанным действием аскорбиновой кислоты [26]. Однако здесь не наблюдалось стимулирующего влияния на активность фагоцитов. В нашем исследовании выявлено стимулирующее влияние на показатели фагоцитоза (см. таблицу). Этот феномен характеризует комплексные свойства LiAc. При этом отмечено увеличение нескольких параметров, включая процент активных нейтрофилов и поглотительную способность нейтрофилов в диапазоне концентраций 0,1–0,01 мг/мл. При меньших дозах достоверного влияния не регистрировалось. Стимулирование параметров фагоцитоза может иметь определенную интерполяцию на клеточный иммунитет в целом.

На основании этого можно прогнозировать наличие мягкого иммуностимулирующего действия *in vivo*. Это в целом коррелирует с литературными данными по стимулирующему действию лития на гемопоэз, и в частности на гранулоцитопоэз [27]. Иммуностимуляция опосредованная литием может использоваться в случае лейкопении различного генеза [28] и даже иммунодефицитах [29]. Однако механизмы индукции гемопоэза в случае использования солей лития в первую очередь обусловлены действием катиона. Анионный компонент соли обеспечивает наличие новых свойств, например антиоксидантных, антигипоксантных, и также участвует в регуляции гемопоэза [30]. При этом отметим, что есть исследования, показывающие цитотоксическое действие антиоксидантов [31, 32]. *In vitro* данный эффект доказан нами при использовании LiAc, (см. рис.

2), где показано дозозависимое снижение жизнеспособности популяции лейкозных клеток. Эти данные подтверждаются на других видах опухолевых клетках и в тестировании *in vivo* при раке печени [33]. В работе К. Pollireddy и соавт. показано ингибирующее действие аскорбата на опухоли поджелудочной железы [34].

Проведенное нами изучение действия LiAc на модели лейкозных клеток ТНР-1 с включением меченого тимидина подтвердило наличие выраженного антипролиферативного эффекта на активно делящихся злокачественных клетках (см. рис. 3). Так, уровень ингибирования пролиферации злокачественных клеток по включению 3H-тимидина через 24 ч после воздействия препарата в концентрации 0,1 мг/мл снижался с $4\,579 \pm 327$ имп/мин от исходного (в контроле) до $2\,293 \pm 241$ имп/мин (59% от контрольных значений). Более низкие концентрации препарата (0,001–0,01 мг/мл) заметного супрессивного влияния на клетки не оказали ($p < 0,05$).

Очевидно, что внутриклеточные механизмы установленного антипролиферативного и цитотоксического действия неспецифические к типу клеток и в целом обусловлены амбивалентным действием, характерным для аскорбатов, которые проявляет антиоксидантное действие только в малых концентрациях. Стоит также учитывать, что высокие антиоксидантные параметры вещества *in vitro* не всегда отражают эффекты, получаемые *in vivo*, ввиду ограниченности методики оценки [35]. Воздействие аскорбатов в высоких дозах приводит к прооксидантной реакции и повышению внутриклеточного уровня активных форм кислорода, в первую очередь перекиси водорода [36]. Это воздействие можно рассматривать как основной неспецифический компонент, ответственный за антипролиферативную активность препарата. В данном случае дуализм действия *in vitro* проявляется в дозозависимом снижении жизнеспособности и пролиферации клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, препарат проявил значимый дозозависимый супрессивный эффект на активно делящиеся клетки. Подавление отмечено на опухолевых линиях и на стимулированных к делению лимфоцитах в реакции бластной трансформации. Наблюдается неспецифическое супрессивное действие комплекса лития в высоких концентрациях. При этом показано стимулирующее влияние на нейтрофильные лейкоциты, играющие важную роль в противоинфекционной резистентности организма. Полученные данные позволяют рассматривать применение LiAc для создания препаратов, обладающих иммуномодулирующей активностью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Bartolucci S., Piccirillo C.A. Immune regulation in human health and disease. *eLS*. 2017;2017:1–17. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000952.pub2.
- Маркова Т.П. Иммунотропные препараты и адаптогены. *РМЖ*. 2019;8(1):60–64.
- Романцов М.Г., Шульдякова О.Г., Коваленко А.Л. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью. *Современные проблемы науки и образования*. 2004;1:29–33.
- Bou Zerdan M., Moussa S., Atoui A., Assi H.I. Mechanisms of immunotoxicity: stressors and evaluators. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(15):8242. DOI: 10.3390/ijms22158242.
- IRTA. Review of immune stimulator substances/agents that are susceptible of being used as feed additives: mode of action and identification of end-points for efficacy assessment. *EFSA Supporting Publications*. 2015;12(12):905E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2015.EN-905.
- Gomez-Cadena A., Barreto A., Fioretino S., Jandus C. Immune system activation by natural products and complex fractions: a network pharmacology approach in cancer treatment. *Cell Stress*. 2020;4(7):154–166. DOI: 10.15698/cst2020.07.224.
- Wang J.S., Wang H.J., Qian H.L. Biological effects of radiation on cancer cells. *Mil. Med. Res.* 2018;5(1):20. DOI: 10.1186/s40779-018-0167-4.
- Candeias S.M., Gaipal U.S. The Immune system in cancer prevention, development and therapy. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2016;16(1):101–107. DOI: 10.2174/1871520615666150824153523.
- Won E., Kim Y.K. An oldie but goodie: lithium in the treatment of bipolar disorder through neuroprotective and neurotrophic mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(12):2679. DOI: 10.3390/ijms18122679.
- Losenkov I.S., Plotnikov E.V., Epimakhova E.V., Bokhan N.A. Lithium in the psychopharmacology of affective disorders and mechanisms of its effects on cellular physiology. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. im. S.S. Korsakova*. 2020;120(11):108–115. DOI: 10.17116/jnevro2020120111108.
- Ferenzstajn-Rochowiak E., Rybakowski J.K. The effect of lithium on hematopoietic, mesenchymal and neural stem cells. *Pharmacological Reports*. 2016;68(2):224–230. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.09.005.
- Hager E.D., Dziambor H., Winkler P., Höhmann D., Maccholdt K. Effects of lithium carbonate on hematopoietic cells in patients with persistent neutropenia following chemotherapy or radiotherapy. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2002;16(2):91–97. DOI: 10.1016/s0946-672x(02)80034-7.
- Kast R.E. How lithium treatment generates neutrophilia by enhancing phosphorylation of GSK-3, increasing HIF-1 levels and how this path is important during engraftment. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(1):23–26. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705872.
- Greenberg D.B., Younger J., Kaufman S.D. Management of lithium in patients with cancer. *Psychosomatics*. 1993;34(5):388–394. DOI: 10.1016/s0033-3182(93)71841-1.
- Rybakowski J.K. Antiviral, immunomodulatory, and neuroprotective effect of lithium. *J. Integr. Neurosci.* 2022;21(2):68. DOI: 10.31083/jjin2102068.
- Qaswal A.B., Suleiman A., Guzu H., Harb T.A., Atiyat B. The Potential Role of Lithium as an Antiviral Agent against SARS-CoV-2 via Membrane Depolarization: Review and Hypothesis. *Scientia Pharmaceutica*. 2021;89(1):11. DOI: 10.3390/SCIPHARM89010011.
- Plotnikov E., Voronova O., Linert W., Martemianov D., Korotkova E., Dorozhko E. et al. Antioxidant and immunotropic properties of some lithium salts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6(1):086–089. DOI: 10.7324/JAPS.2016.600115.
- Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L., Della-Morte D. et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging*. 2018;13:757–772. DOI: 10.2147/cia.s158513.
- Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O., Sazhina N., Petrova E., Artamonov A. et al. Comparative investigation of antioxidant activity of human serum blood by amperometric, voltammetric and chemiluminescent methods. *Arch. Med. Sci.* 2016;12(5):1071–1076. DOI: 10.5114/aoms.2015.50234.
- Olefir Y., Romanov B., Kukes V., Sychev D., Prokofiev A., Parfenova O. et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of socially significant human diseases and ways of its drug correction. *Medical News of the North Caucasus*. 2021;16(4):450–455. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16109.
- Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015; 4: 180-3. DOI:10.1016/j.redox.2015.01.002.
- Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O., Dorozhko E., Bohan N., Plotnikov S. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and Pharmacology*. 2015;19(2):107–113.
- Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O. Lithium Salts of krebs cycle substrates as potential normothymic antioxidant agents. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 2018;10(4):240–245. DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_140_18.
- Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.* 2008;4(2):89–96.
- Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. М: Медицина, 1996:240.
- Belin S., Kaya F., Duisit G., Giacometti S., Ciccolini J., Fontés M. Antiproliferative effect of ascorbic acid is associated with the inhibition of genes necessary to cell cycle progression. *PLoS One*. 2009;4(2):e4409. DOI: 10.1371/journal.pone.0004409.
- Joyce R.A. Sequential effects of lithium on haematopoiesis. *British Journal of Haematology*. 1984;56(2):307–321. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1984.tb03958.x.
- Young W. Review of lithium effects on brain and blood. *Cell Transplant*. 2009;18(9):951–975. DOI: 10.3727/096368909x471251.
- Gallicchio V.S., Hughes N.K., Tse K.F., Ling J., Birch N.J. Effect of lithium in immunodeficiency: improved blood cell formation in mice with decreased hematopoiesis as the result of LP-BM5 MuLV infection. *Antiviral Res.* 1995;26(2):189–202. DOI: 10.1016/0166-3542(94)00075-j.
- Agathocleous M., Meacham C.E., Burgess R.J., Piskounova E., Zhao Z., Crane G.M. et al. Ascorbate regulates hematopoietic stem cell function and leukaemogenesis. *Nature*. 2017;549(7673):476–481. DOI: 10.1038/nature23876.

31. Sotler R., Poljšak B., Dahmane R., Jukić T., Pavan Jukić D., Rotim C. et al. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clin. Croat.* 2019;58(4):726–736. DOI: 10.20471/acc.2019.58.04.20.
32. Carocho M., Ferreira I.C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem. Toxicol.* 2013;51:15–25. DOI: 10.1016/j.fct.2012.09.021.
33. Wan J., Zhou J., Fu L., Li Y., Zeng H., Xu X. et al. Ascorbic acid inhibits liver cancer growth and metastasis in vitro and in vivo, independent of stemness gene regulation. *Frontiers in Pharmacology.* 2021;12:726015. DOI: 10.3389/fphar.2021.726015.
34. Polireddy K., Dong R., Reed G., Yu J., Chen P., Williamson S. et al. High dose parenteral ascorbate inhibited pancreatic cancer growth and metastasis: mechanisms and a phase I/IIa study. *Sci. Rep.* 2017;7(1):17188. DOI: 10.1038/s41598-017-17568-8.
35. Kotha R.R., Tareq F.S., Yildiz E., Luthria D.L. Oxidative Stress and Antioxidants – A Critical Review on in vitro Antioxidant Assays. *Antioxidants.* 2022;11(12):2388. DOI: 10.3390/antiox11122388.
36. Mastrangelo D., Pelosi E., Castelli G., Lo-Coco F., Testa U. Mechanisms of anti-cancer effects of ascorbate: Cytotoxic activity and epigenetic modulation. *Blood Cells Mol. Dis.* 2018;69:57–64. DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.09.005.

Вклад авторов

Плотников Е.В., Третьякова М.С. – разработка концепции и дизайна эксперимента, выполнение экспериментов. Кривошеков С.В. – получение, очистка и оценка качества образцов LiAc, обсуждение результатов. Белоусов М.В., Плотников Е.В. – анализ результатов, интерпретация данных, написание рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Колобовникова Ю.В. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Плотников Евгений Владимирович – канд. хим. наук, доцент, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ; ст. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, plotnikov.e@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4374-6422>

Третьякова Мария Сергеевна – аспирант, Исследовательская школы химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ; инженер, НИЦ «Онкотераностика»; мл. науч. сотрудник, лаборатория биологии опухолевой прогрессии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, trremar@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5040-931X>

Кривошеков Сергей Владимирович – канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтического анализа, СибГМУ, руководитель НОЛ химико-фармацевтических исследований, г. Томск, ksv_tsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>

Колобовникова Юлия Владимировна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, профессор кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, kolobovnikova.julia@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7156-2471>

Белоусов Михаил Валерьевич – д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ; профессор Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск, mvb63@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>

(✉) Плотников Евгений Владимирович, plotnikov.e@mail.ru

Поступила в редакцию 22.02.2023;
одобрена после рецензирования 07.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023



УДК 616.132.2-004.6:616-018.26:577.175.8]-055.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-73-78>



Уровни металлопротеиназ и гормонов жировой ткани у мужчин с коронарным атеросклерозом

Полонская Я.В.¹, Каштанова Е.В.¹, Стахнёва Е.М.¹, Ледовских С.Р.¹, Гарбузова Е.В.¹, Шрамко В.С.¹, Кургузов А.В.², Мурашов И.С.², Садовский Е.В.¹, Рагино Ю.И.¹

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН) Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова 175/1

² Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. акад. Е.Н. Мешалкина Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

РЕЗЮМЕ

Цель: изучить уровни гормонов жировой ткани и металлопротеиназ у пациентов с верифицированным коронарным атеросклерозом и оценить ассоциации изучаемых биомаркеров с абдоминальным ожирением.

Материалы и методы. В исследование включили 96 мужчин в возрасте $58,9 \pm 5,1$ лет: 80 мужчин с коронароангиографически верифицированным атеросклерозом и стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса и 16 мужчин без атеросклероза. У всех исследуемых проводилось измерение антропометрических показателей и забор крови натощак. Методом мультиплексного анализа в крови определяли уровень адипонектина, лептина, резистина, адипсина, амилина, металлопротеиназ (ММП) 1, -2, -3, -7, -9, -10, -12, -13. Статистическая обработка результатов проводилась в программе SPSS 13.0.

Результаты. У пациентов с выраженным атеросклерозом по сравнению с контрольной группой были выше уровни липокалина, ММП-1, ММП-7 и ММП-12. Концентрация в крови адипонектина у пациентов с атеросклерозом была снижена. Выявлены обратные ассоциации между окружностью талии и концентрациями ММП-1 и ММП-12, индекса массы тела с ММП-1; обнаружена прямая связь средней силы между уровнями резистина и ММП-2 и ММП-3; амилина с ММП-9; адипонектина с ММП-12; лептина с ММП-7.

Заключение. Полученные результаты позволяют говорить о связи между уровнем маркеров деструкции и гормонами жировой ткани, которые ведут к развитию осложнений сердечно-сосудистых заболеваний и объясняют влияние ожирения на дестабилизацию атеросклеротической бляшки.

Ключевые слова: металлопротеиназы, атеросклероз, гормоны жировой ткани

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

Источник финансирования. Статья подготовлена в рамках ГЗ № 122031700094-5, при финансовой поддержке Правительства НСО и гранта РНФ № 21-15-00022. В работе использованы материалы биобанка НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 2 от 03.07.2017) и комитетом ФГБУ «СФБМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (протокол № 6 от 05.07.2017).

Для цитирования: Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Стахнёва Е.М., Ледовских С.Р., Гарбузова Е.В., Шрамко В.С., Кургузов А.В., Мурашов И.С., Садовский Е.В., Рагино Ю.И. Уровни металлопротеиназ и гормонов жировой ткани у мужчин с коронарным атеросклерозом. *Бюллетень сибирской медицины.* 2023;22(4):73–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-73-78>.

✉ Полонская Яна Владимировна, yana-polonskaya@yandex.ru

Levels of metalloproteinases and adipose tissue hormones in men with coronary atherosclerosis

Polonskaya Ya.V.¹, Kashtanova E.V.¹, Stakhneva E.M.¹, Ledovskikh S.R.¹, Garbuzova E.V.¹, Shramko V.S.¹, Kurguzov A.V.², Murashov I.S.², Sadovsky E.V.¹, Ragino Yu.I.¹

¹ *Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IIPM – Branch of IC&G SB RAS) 175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation*

² *E.N.Meshalkin National Medical Research Center 15, Rechkunovskaya Str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To study the effect of adipose tissue hormones on the level of metalloproteinases in men with verified coronary atherosclerosis and to assess associations between the studied biomarkers and abdominal obesity.

Materials and methods. The study included 96 men aged 58.9 ± 5.1 years: 80 men with angiographically verified atherosclerosis and class II–III angina pectoris and 16 men without atherosclerosis. Anthropometric parameters were measured in all patients, and their blood was taken on an empty stomach. The blood levels of adiponectin, leptin, resistin, adipon, amylin, and metalloproteinases (MMPs) -1, -2, -3, -7, -9, -10, -12, -13 were determined by the multiplex analysis. Statistical processing of the results was carried out using the SPSS 13.0 software.

Results. In patients with severe atherosclerosis, lipocalin, MMP-1, MMP-7, and MMP-12 levels were higher than in the control group. The blood concentration of adiponectin in patients with atherosclerosis was reduced. Inverse correlations were revealed between waist circumference and concentrations of MMP-1 and MMP-12, as well as between body mass index and MMP-1. A moderate direct relationship was revealed between resistin and MMP-2 and MMP-3; between amylin and MMP-9; between adiponectin and MMP-12; between leptin and MMP-7.

Conclusion. The results obtained suggest a relationship between the level of damage markers and adipose tissue hormones, which lead to complications of cardiovascular diseases and explain the effect of obesity on atherosclerotic plaque destabilization.

Keywords: metalloproteinases, atherosclerosis, adipose tissue hormones

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

Source of financing. The study was carried out within the state assignment No. 122031700094-5, with the financial support of the Government of the Novosibirsk Region and the Russian Science Foundation grant No. 21-15-00022. The work used materials from the biocollection of the IIPM – Branch of IC&G SB RAS.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to examination and personal data processing. The study was approved by the Ethics Committee at (Protocol No. 6 of 05.07.2017).

For citation: Polonskaya Ya.V., Kashtanova E.V., Stakhneva E.M., Ledovskikh S.R., Garbuzova E.V., Shramko V.S., Kurguzov A.V., Murashov I.S., Sadovsky E.V., Ragino Yu.I. Levels of metalloproteinases and adipose tissue hormones in men with coronary atherosclerosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):73–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-73-78>.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время появляется все больше исследований, направленных на изучение влияния ожирения на атеросклероз и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Прежде всего с атеросклерозом и повышенным риском развития неблагоприятных

сердечно-сосудистых событий связывают наличие абдоминального ожирения. Данные свидетельствуют о том, что жировая ткань в качестве эндокринного органа вырабатывает большое количество адипокинов, таких как лептин, резистин, адипонектин, и воспалительных цитокинов, оказывающих как проатерогенное, так и антиатерогенное действие. Избы-

точное накопление липидов в жировой ткани вызывает дисфункцию адипоцитов, в результате которой повышается секреция проатерогенных адипокинов и воспалительных цитокинов в кровотоке, что приводит к повреждению эндотелия и к образованию атеросклеротической бляшки, которая в дальнейшем, при дисбалансе металлопротеиназ (ММП), может перейти в нестабильное состояние.

Патофизиологические процессы, лежащие в основе влияния гормонов жировой ткани на уровень ММП, которые могут вносить вклад в патогенез атеросклероза, недостаточно изучены. Поэтому целью нашей работы было изучение уровней гормонов жировой ткани и металлопротеиназ в сыворотке пациентов с коронарным атеросклерозом и оценка ассоциаций, изучаемых биомаркеров с абдоминальным ожирением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Забор материала для исследований проводился совместно с Национальным медицинским исследовательским центром им. акад. Е.Н. Мешалкина. Этические комитеты учреждений одобрили проводимое исследование, в которое было включено 96 мужчин в возрасте $58,9 \pm 5,1$ лет: 80 мужчин основной группы, поступивших на операцию коронарного шунтирования с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом и стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса и 16 мужчин контрольной группы из популяционной выборки г. Новосибирска НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, сопоставимых по возрасту и индексу массы тела, без атеросклероза.

Всеми пациентами заполнялась форма информированного согласия на участие в исследовании. У всех исследуемых проводилось измерение антропометрических данных (рост, масса тела, окружность талии и бедер) и осуществлялся забор крови натощак, через 12 ч после последнего приема пищи. Группа пациентов с атеросклерозом была поделена на подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия абдоминального ожирения. Мужчина относился к подгруппе с абдоминальным ожирением при окружности талии ≥ 94 см [1]. Методом мультиплексного анализа на проточном флуориметре Lumines MAGPIX в крови определяли уровень адипонектина, лептина, резистина, адипсина, амилина, металлопротеиназ (ММП) 1, -2, -3, -7, -9, -10, -12, -13.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе SPSS 13.0. Биомаркеры на нормальность распределения проверялись при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Так как большинство показателей не имели нормального распре-

деления, в таблицах значения представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me [Q_{25}; Q_{75}]$. Различия оценивали при помощи критерия Манна – Уитни, корреляционные связи – при помощи непараметрического коэффициента Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 1. У пациентов с атеросклерозом на 20% оказался ниже уровень адипонектина по сравнению с контрольной группой. Значимые отличия между основной и контрольной группой также были получены для ММП-1, ММП-7 и ММП-12. Уровень ММП-1 был выше в основной группе на 67,9%; ММП-7 – на 30,6% и ММП-12 на 107,1% по сравнению с контрольной группой. Для остальных показателей значимых различий получено не было (табл. 1).

Результаты, полученные у пациентов с атеросклерозом в зависимости от отсутствия/наличия абдоминального ожирения, представлены в табл. 2. Уровень ММП-1 и ММП-12 был выше у пациентов без абдоминального ожирения в 1,7 ($p = 0,001$) и в 1,38 раза ($p = 0,037$) соответственно. Для остальных показателей уровень статистической значимости различий был больше 0,05.

Таблица 1

Уровень изучаемых биомаркеров в контрольной группе и у пациентов с атеросклерозом коронарных артерий, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$			
Показатель	Контрольная группа	Основная группа	p
Адипонектин, мкг/мл	34,3 [16,4; 53,1]	24,4 [13,9; 38,5]	0,022
Адипсин, мкг/мл	10,4 [7,0; 14,7]	9,6 [6,1; 13,1]	0,263
Резистин, нг/мл	21,7 [11,9; 49,1]	29,9 [11,4; 45,9]	0,716
Лептин, нг/мл	3,9 [1,2; 7,3]	4,6 [1,4; 8,2]	0,660
Амилин, пг/мл	6,2 [0,7; 16,2]	4,5 [1,6; 11,5]	0,790
ММП-1, нг/мл	5,3 [2,4; 8,9]	8,9 [5,7; 15,6]	0,002
ММП-2, нг/мл	111,7 [89,1; 126,9]	103,6 [78,3; 119,4]	0,253
ММП-3, нг/мл	47,1 [28,4; 66,5]	33,6 [21,3; 65,4]	0,202
ММП-7, нг/мл	8,5 [7,6; 11,9]	11,1 [9,4; 15,5]	0,012
ММП-9, нг/мл	236,0 [151,3; 307,6]	229,5 [131,0; 353,8]	0,611
ММП-10, нг/мл	0,62 [0,52; 0,82]	0,68 [0,52; 0,81]	0,722
ММП-12, нг/мл	0,14 [0,13; 0,17]	0,29 [0,18; 0,43]	0,000
ММП-13, пг/мл	30,4 [17,6; 71,9]	36,5 [18,5; 58,2]	0,701

Таблица 2

Уровень гормонов жировой ткани и металлопротеиназ у пациентов с атеросклерозом в зависимости от наличия или отсутствия абдоминального ожирения, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$			
Показатель	Без АО	С АО	p
Адипонектин, мкг/мл	28,3 [15,4; 41,9]	18,9 [11,7; 36,1]	0,188
Адипсин, мкг/мл	10,9 [8,1; 13,6]	9,2 [5,5; 11,5]	0,07

Окончание табл. 2

Показатель	Без АО	С АО	<i>p</i>
Резистин, нг/мл	25,9 [8,2; 44,2]	16,6 [8,7; 34,7]	0,748
Лептин, нг/мл	4,0 [1,1; 7,9]	5,2 [2,1; 9,7]	0,347
Амилин, пг/мл	2,6 [1,6; 8,8]	4,5 [1,6; 10,5]	0,480
ММП-1, нг/мл	10,34 [7,1; 19,5]	6,1 [3,5; 10,0]	0,001
ММП-2, нг/мл	104,9 [82,3; 131,0]	93,7 [78,3; 112,9]	0,163
ММП-3, нг/мл	33,6 [23,6; 63,5]	35,9 [16,8; 65,8]	0,71
ММП-7, нг/мл	11,9 [9,4; 15,5]	10,2 [8,5; 14,3]	0,362
ММП-9, нг/мл	226,5 [122,1; 343,1]	205,5 [132,7; 325,9]	0,812
ММП-10, нг/мл	0,69 [0,55; 0,82]	0,68 [0,43; 0,82]	0,57
ММП-12, нг/мл	0,29 [0,17; 0,5]	0,21 [0,14; 0,33]	0,037
ММП-13, пг/мл	30,2 [17,8; 62,6]	43,15 [24,5; 58,4]	0,518

Примечание. АО – абдоминальное ожирение.

Для того чтобы оценить влияние ожирения на уровень металлопротеиназ, нами был проведен корреляционный анализ (коэффициент корреляции Спирмена). Выявлена связь уровней ММП-1 ($r = -0,531$; $p = 0,0001$) и ММП-12 ($r = -0,248$; $p = 0,032$) с окружностью талии. С индексом массы тела выявлена связь только для ММП-1 ($r = -0,264$; $p = 0,012$). Связь с гормонами жировой ткани выявлена для ММП-2, ММП-3, ММП-7, ММП-9 и ММП-12. Резистин был связан с концентрацией ММП-2 и ММП-3 ($r = 0,321$; $p = 0,041$ и $r = 0,319$; $p = 0,002$ соответственно); лептин – с ММП-7 ($r = 0,23$; $p = 0,035$); адипонектин – с ММП-12 ($r = 0,329$; $p = 0,008$). Уровень ММП-9 был связан с амилином ($r = 0,568$; $p = 0,027$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Отличия в уровнях биомаркеров между контрольной группой и пациентами с атеросклерозом были получены для адипонектина, липокалина-2, ММП-1, ММП-7, ММП-12.

Адипонектин может подавлять образование активных форм кислорода, высвобождение провоспалительных факторов, экспрессию молекул адгезии, может ингибировать апоптоз гладкомышечных клеток и способствовать оттоку холестерина из макрофагов [2]. В то же время данные о влиянии адипонектина при ишемической болезни сердца (ИБС) противоречивы. По данным метаанализа L. Yang и соавт., повышенный уровень адипонектина был независимо связан с более высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний и смертности от всех причин пациентов с ИБС [3]. Q. Li и соавт. показали, что частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий наоборот была выше в группе пациентов с низким уровнем адипонектина [4]. В нашем исследовании мы получили, что у пациентов с атеросклерозом по сравнению с контрольной группой был снижен уровень адипонектина. Это говорит об антиатерогенной функции адипонектина.

Выявленная нами связь резистина с ММП-2 и ММП-3 показывает, что, возможно, он усиливает дисфункцию эндотелия, индуцирует пролиферацию гладкомышечных клеток и способствует поступлению мононуклеаров в интиму через воздействие на ММП. В исследовании S. Niaz и соавт. [5] отмечено прогрессивное повышение уровня резистина в сыворотке крови у пациентов с артериальной гипертензией и ИБС по сравнению со здоровыми субъектами. В нашем исследовании уровень резистина был выше у пациентов с атеросклерозом, но уровень значимости был больше 0,05, что может быть связано с малым размером выборки и требует дальнейшего изучения.

ММП-1 считается основным ферментом, ответственным за деградацию коллагена. Кроме того, ММП-1 может привести к активации тромбоцитов, способствует расширению бляшек, разрыву и кровоизлиянию через деградацию коллагена внутри бляшки. Высокие уровни ММП-1 связаны с повышенным риском смертности от всех причин у пациентов с верифицированным или возможным ишемическим заболеванием [6]. Мы получили более высокие уровни ММП-1 у пациентов с атеросклерозом. Также мы получили обратную связь уровня ММП-1 с индексом массы тела и окружностью талии. Это отличается от данных S. Boumiza и соавт. [7], которые получили прямую связь. Может быть, это связано с тем, что в нашем исследовании были только мужчины.

ММП-7 играет важную роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки, так как связана с апоптозом гладкомышечных клеток сосудистой стенки и с макрофагами в некротическом ядре. Была установлена связь между уровнями ММП-7 в плазме и общей смертностью у пациентов с ИБС. Наши данные о повышенном уровне ММП-7 у пациентов с атеросклерозом совпадают с данными других исследователей [8]. C. Chavey и соавт. [9] показали, что ММП-7 заметно снижаются при ожирении, в нашем исследовании отмечалось снижение уровня, но различия не достигли необходимого уровня достоверности.

Известно, что экспрессия ММП-12 повышена при ожирении, она продуцируется макрофагами и связана с прогрессированием и нестабильностью бляшек [10, 11]. Сообщалось о повышении уровня циркулирующего ММП-12 у бессимптомных пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, связанным с толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий и цереброваскулярными событиями во время наблюдения [12], а также с наличием ИБС [13]. В нашем исследовании ММП-12 был повышен у пациентов с атеросклерозом, что совпадает с результатами M. Marcos-Jubilar и соавт. [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные указывают на связь между уровнем маркеров деструкции и гормонами жировой ткани, которые ведут к развитию осложнений сердечно-сосудистых заболеваний и объясняют влияние ожирения на дестабилизацию атеросклеротической бляшки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кухарчук В.В., Ежов М.В., Сергиенко И.В., Арабидзе Г.Г., Балахонова Т.В., Гуревич В.С. и др. Клинические рекомендации Евразийской ассоциации кардиологов (ЕАК)/ Национального общества по изучению атеросклероза (НОА, Россия) по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза (2020). *Евразийский кардиологический журнал*. 2020;(2):6–29. DOI: 10.38109/2225-1685-2020-2-6-29.
2. Jenke A., Wilk S., Poller W., Eriksson U., Valaperti A., Rauch B.H. et al. Adiponectin protects against Toll-like receptor 4-mediated cardiac inflammation and injury. *Cardiovasc. Res.* 2013;99(3):422–431. DOI: 10.1093/cvr/cvt118.
3. Yang L., Li B., Zhao Y., Zhang Z. Prognostic value of adiponectin level in patients with coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):227. DOI: 10.1186/s12944-019-1168-3.
4. Li Q., Lu Y., Sun L., Yan J., Yan X., Fang L. et al. Plasma adiponectin levels in relation to prognosis in patients with angiographic coronary artery disease. *Metabolism*. 2012;61(12):1803–1808. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.06.001.
5. Niaz S., Latif J., Hussain S. Serum resistin: A possible link between inflammation, hypertension and coronary artery disease. *Pak. J. Med. Sci.* 2019;35(3):641–646. DOI: 10.12669/pjms.35.3.274.
6. Cavusoglu E., Marmur J.D., Hegde S., Yanamadala S., Batuman O.A., Chopra V. et al. Relation of baseline plasma MMP-1 levels to long-term all-cause mortality in patients with known or suspected coronary artery disease referred for coronary angiography. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):268–275. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.003.
7. Boumiza S., Chahed K., Tabka Z., Jacob M.P., Norel X., Ozen G. MMPs and TIMPs levels are correlated with anthropometric parameters, blood pressure, and endothelial function in obesity. *Sci. Rep.* 2021;11(1):20052. DOI: 10.1038/s41598-021-99577-2.
8. Abbas A., Aukrust P., Russell D., Krohg-Sørensen K., Almås T., Bundgaard D. et al. Matrix metalloproteinase 7 is associated with symptomatic lesions and adverse events in patients with carotid atherosclerosis. *PLoS One*. 2014;9(1):e84935. DOI: 10.1371/journal.pone.0084935.
9. Chavey C., Mari B., Monthouel M.N., Bonnafous S., Anglard P., Van Obberghen E. et al. Matrix metalloproteinases are differentially expressed in adipose tissue during obesity and modulate adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* 2003;278(14):11888–11896. DOI: 10.1074/jbc.M209196200.
10. Amor M., Moreno-Viedma V., Sarabi A. et al. Identification of matrix metalloproteinase-12 as a candidate molecule for prevention and treatment of cardiometabolic disease. *Mol. Med.* 2016;22:487–496. DOI: 10.2119/MOLMED.2016.00068.
11. Goncalves I., Bengtsson E., Colhoun H.M., Shore A.C., Palombo C., Natali A. et al. SUMMIT consortium. elevated plasma levels of mmp-12 are associated with atherosclerotic burden and symptomatic cardiovascular disease in subjects with type 2 diabetes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015;35(7):1723–1731. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.305631.
12. Mahdessian H., PerisicMatic L., Lengquist M., Ger-tow K., Sennblad B., Baldassarre D. et al. *J. Intern. Med.* 2017;282(5):429–444. DOI: 10.1111/joim.12655
13. Jguirim-Souissi I., Jelassi A., Addad F., Hassine M., Najah M., Ben Hamda K. et al. Plasma metalloproteinase-12 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels and presence, severity, and outcome of coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 2007;100(1):23–27. DOI: 10.1016/j.amjcard.2007.01.069.
14. Marcos-Jubilar M., Orbe J., Roncal C., Machado F.J.D., Rodriguez J.A., Fernández-Montero A. et al. Association of SDF1 and MMP12 with Atherosclerosis and Inflammation: Clinical and Experimental Study. *Life*. 2021;11(5):414. DOI: 10.3390/LIFE11050414.

Вклад авторов

Полонская Я.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Каштанова Е.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи. Стахнева Е.М., Шрамко В.С., Садовский Е.В., Ледовских С.Р. – анализ и интерпретация данных. Гарбузова Е.В. – анализ и интерпретация данных, перевод статьи. Кургузов А.В., Мурашов И.С. – получение биоматериала, анализ и интерпретация данных. Рагино Ю.И. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Полонская Яна Владимировна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, yana-polonskaya@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3538-0280>

Каштанова Елена Владимировна – д-р биол. наук, доцент, зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, elekastanova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2268-4186>

Стахнёва Екатерина Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, stahneva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0484-6540>

Ледовских Софья Радиковна – ординатор, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, ledovskikh.sofiya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7345-0473>

Гарбузова Евгения Витальевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, strukova.j@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5316-4664>

Шрамко Виктория Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, nosova@211.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0436-2549>

Кургузов Алексей Витальевич – кардиолог, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, aleksey_kurguzov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1345-2199>

Мурашов Иван Сергеевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория патоморфологии, НМИЦ им. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, ivmurashov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3712-1258>

Садовский Евгений Викторович – мл. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, stinger000@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7350-534X>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, член-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

(✉) **Полонская Яна Владимировна**, yana-polonskaya@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.04.2023;
одобрена после рецензирования 28.04.2023;
принята к публикации 25.05.2023



УДК 617.735-001.15:616.8-091.943
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-79-85>



Влияние продолжительного постоянного освещения на глию сетчатки

Потапов А.В.¹, Варакута Е.Ю.¹, Солонский А.В.^{1,2}, Логвинов С.В.¹, Герасимов А.В.¹,
Светлик М.В.¹, Жданкина А.А.¹, Геренг Е.А.¹, Петров И.А.¹

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

² Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить реакцию глиальной популяции сетчатой оболочки глаза при непрерывном световом облучении различной интенсивности и разработать математическую модель, позволяющую оценить динамику поражения радиальных глиоцитов и прогнозировать их световые поражения во временной и дозовой зависимости.

Материалы и методы. Беспородных половозрелых белых крыс ($n = 50$) массой 180–200 г подвергали постоянному круглосуточному освещению (200, 3 500 лк, 1-, 2-, 7-, 14-, 30-е сут). В качестве контроля использовали 25 необлученных животных. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, проводили подсчет числа пикноморфных клеток радиальной глии. Ультраструктурные изменения глиоцитов изучали в электронном микроскопе JEM-100 CX-II.

Результаты. Исследование показало, что олигодендроглиоциты и астроциты после фотоповреждения в основном характеризуются набуханием митохондрий, расширением цистерн эндоплазматического ретикулума. Клетки микроглии в поздние сроки эксперимента (30 сут) локализуются во внутренних слоях сетчатки, их плотность зависит от интенсивности облучения. Наиболее ранние (1–2-е сут) изменения радиальных глиоцитов наблюдаются в субретинальном пространстве, выражаясь пролиферацией склеральных отростков и фагоцитозом фрагментов погибших нейросенсорных клеток. Усиление деструктивных изменений клеток радиальной глии приводит к нарушению глионейрональных взаимоотношений в сетчатке и снижению репаративных процессов со стороны нейронов сетчатки (7–14-е сут). Разработанная математическая модель позволяет оценить динамику поражения радиальных глиоцитов сетчатки и прогнозировать световые поражения во временной и дозовой зависимости.

Заключение. Глиальные реакции сетчатой оболочки глаза после фотоповреждения зависят от интенсивности и длительности облучения. По мере увеличения срока облучения в глиоцитах усиливаются дегенеративные изменения, более выражены после высокоинтенсивного (3 500 лк) светового облучения.

Ключевые слова: радиальная глиа, микроглиоциты, астроциты, олигодендроглиоциты, свет, фотоповреждение

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 комитетом по этике СибГМУ (протокол № 399 от 27.02.2006).

Для цитирования: Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Солонский А.В., Логвинов С.В., Герасимов А.В., Светлик М.В., Жданкина А.А., Геренг Е.А., Петров И.А. Влияние продолжительного постоянного освещения на глию сетчатки. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):79–85. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-79-85>.

✉ Потапов Алексей Валерьевич, potalex@mail.ru

Effect of long-term constant irradiation on retinal glia

Potapov A.V.¹, Varakuta E.Yu.¹, Solonsky A.V.^{1,2}, Logvinov S.V.¹, Gerasimov A.V.¹, Svetlik M.V.¹, Zhdankina A.A.¹, Gereng E.A.¹, Petrov I.A.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the response of retinal glial cells to constant irradiation of various intensity and to develop a mathematical model allowing to evaluate the dynamics of damage to radial glial cells and predict their photodamage depending on the duration and intensity of irradiation.

Materials and methods. Outbred sexually mature white rats ($n = 50$) weighing 180–200 g were exposed to constant round-the-clock light (200, 3,500 lux, days 1, 2, 7, 14, 30). The control group consisted of 25 non-irradiated animals. Using semi-thin sections stained with toluidine blue, we counted the number of pycnomorphic cells in the radial glial cells. Ultrastructural changes in the glial cells were studied using the JEM-100 CX-II electron microscope.

Results. The study showed that after photodamage, oligodendrocytes and astrocytes were mainly characterized by mitochondrial swelling and expansion of endoplasmic reticulum cisterns. Microglial cells at the late stage of the experiment (day 30) were localized in the inner layers of the retina; their density depended on the intensity of irradiation. The earliest (days 1, 2) changes in the radial glial cells were noted in the subretinal space and were manifested by proliferation of scleral processes and phagocytosis of dead sensorineural cell fragments. The intensification of destructive changes in the radial glial cells led to disturbances in neuron – glia interactions in the retina and a decrease in regeneration of retinal neurons (day 7–14). The developed mathematical model allowed to assess the dynamics of damage to the radial glial cells in the retina and to predict photodamage depending on the duration and intensity of irradiation.

Conclusion. Glial responses in the retina after photodamage depend on the intensity and duration of light exposure. As the duration of irradiation increases, degenerative changes in glial cells intensify and are more pronounced after high (3,500 lux) irradiation intensity.

Keywords: radial glial cells, microglial cells, astrocytes, oligodendrocytes, light, photodamage

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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 Siberian State Medical University (Protocol No. 399 of 27.02.2006).

For citation: Potapov A.V., Varakuta E.Yu., Solonsky A.V., Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Svetlik M.V., Zhdankina A.A., Gereng E.A., Petrov I.A. Effect of long-term constant irradiation on retinal glia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):79–85. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-79-85>.

ВВЕДЕНИЕ

В век научно-технического прогресса человек постоянно подвергается длительному воздействию многочисленных осветительных приборов: светодиодных ламп, экранов телевизоров, компьютеров, цифровых планшетов и смартфонов [1–4]. Люминесцентные лампы широко используются на производствах и в общественных учреждениях [5–7]. Замена ламп накаливания более экономичными энергосбе-

регающими заставляет беспокоиться по поводу их безопасности для здоровья человека и потенциальных рисков для сетчатки глаза из-за их специфических спектральных и энергетических характеристик [8–10]. Светодиодные лампы в основном характеризуются интенсивным излучением в синей области видимого спектра, которое может вызывать повреждение структурных компонентов сетчатки при низкоинтенсивном освещении, а не только в экстремальных экспериментальных условиях [1–3, 9–14].

Глиальная популяция сетчатки весьма разнообразна. Астроциты располагаются по ходу кровеносных сосудов, олигодендроглиоциты лежат между нервными волокнами, а микроглиоциты – во внутреннем сетчатом и ганглионарном слоях. Необходимо отметить, что эти клетки не принимают непосредственного участия в процессе фотосъёмки, но они участвуют в метаболизме и фагоцитозе [15–17]. Радиальные глиоциты играют важную роль в поддержании гомеостаза и обеспечивают защиту нейросенсорных клеток. При их массовой гибели глиоциты гипертрофируются, пролиферируют и мигрируют в очаг повреждения, заполняя своими отростками место деструкции и образуют глиальные рубцы, что приводит к реконструкции сетчатки на более поздней стадии дегенерации [18–22]. В доступной литературе очень мало данных о качественных и количественных характеристиках изменений глиоцитов сетчатки на фотоповреждение.

Цель исследования – изучить реакцию глиальной популяции сетчатой оболочки глаза при непрерывном световом облучении различной интенсивности и разработать математическую модель, которая позволит провести оценку степени повреждения радиальных глиоцитов и прогнозировать их световые поражения во временной и дозовой зависимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стали 75 беспородных половозрелых белых крыс массой 180–200 г, предоставленных вивариями СибГМУ и НИИ фармакологии Томского НИМЦ. Животные находились в условиях фиксированного светового режима (25 лк, 12 ч день, 12 ч ночь) в соответствии с требованиями СНиП II-A.9-71 к нормам искусственного освещения помещений. В первой и второй серии экспериментов животных ($n = 50$) подвергали постоянному круглосуточному освещению (200, 3 500 лк, 1-, 2-, 7-, 14-, 30-е сут). Группа контроля состояла из 25 необлученных крыс, содержащихся в одинаковых условиях с экспериментальными. Число животных на каждую опытную точку – 5. Устройство для освещения состояло из прямоугольных рефлекторов с закрепленными в них лампами ЛБ-40, равномерно освещающими животных с пяти сторон. Эксперименты проводили с соблюдением правил, принятым Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986), и правилами лабораторной практики (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267).

Животных выводили из эксперимента декапитацией сразу после окончания облучения светом. Центральные участки задней стенки глаза и зрительные

нервы фиксировали в 2,5%-м глютаральдегиде на какодилатном буфере (pH 7,4), постфиксировали в 1%-м растворе четырехоксида осмия и заключали в эпон. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, подсчитывали число пикноморфных клеток радиальной глии сетчатой оболочки глаза (200 клеток на 15 полей зрения с пяти срезов у каждого животного) при увеличении 10×90 . Ультраструктурные изменения клеток глии сетчатки изучали в электронном микроскопе JEM-100 CX-II на ультратонких срезах, которые контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи непараметрического критерия Манна – Уитни, используя программу Statistica 6.0. Результаты исследования приведены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. По полученным в эксперименте данным, используя методы, реализованные в программной среде mathCAD (интерполяция, регрессия, аппроксимация), была построена математическая модель, позволяющая оценить динамику поражения радиальных глиоцитов сетчатки при световом освещении.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В астроцитах, сопровождающих кровеносные сосуды, в ранние сроки (1–2-е сут) светового воздействия (200, 3 500 лк) сохраняется структура глиофибрилярного аппарата, но наблюдается набухание цистерн эндоплазматической сети и митохондрий. При длительных облучениях (7–30 сут, 200, 3 500 лк) большинство астроцитов сетчатки по своему строению не отличаются от контроля, но ядра некоторых из них характеризуются пикнотическими изменениями. Олигодендроглиоциты локализуются между нервными волокнами зрительного нерва, образуя миелиновые оболочки осевым цилиндрам. После низкоинтенсивного светового облучения (200 лк, 1–30 сут) наблюдается очаговая демиелинизация с последующим фагоцитозом миелина глиальными элементами. После 1–2 сут высокоинтенсивного светового воздействия (3 500 лк) в олигодендроглиоцитах наблюдается набухание части органелл. При длительном (7–30 сут) световом облучении (200, 3 500 лк) на отдельных участках или по всему периметру нервного волокна происходит расслоение миелиновой оболочки. Отростки олигодендроглиоцитов, расположенные в непосредственной близости от очагов демиелинизации, характеризуются уменьшением электронной плотности гиалоплазмы и повышением количества фрагментов фагоцитированных мембранных пластин миелина различной величины и формы.

В поздние сроки (200, 3 500 лк, 30 сут) эксперимента во внутреннем ядерном слое обнаруживаются клетки, имеющие неправильную (фестончатую) форму ядра и характеризующиеся повышенной электронной плотностью кариоплазмы и равномерным расположением хроматина. В их цитоплазме находятся многочисленные вакуоли и лизосомы, имеющие различные размеры. Такое строение позволило отнести эти клетки к микроглии. Необходимо отметить, что их число более выражено при высокоинтенсивном световом воздействии.

Ядродержащие части радиальных глиоцитов расположены во внутреннем ядерном слое, а их отростки пронизывают в различном направлении слой сетчатки и формируют наружные и внутренние пограничные мембраны. После 1–2 сут низкоинтенсивного светового воздействия апикальные отделы радиальных глиоцитов содержат в цитоплазме множество вакуолей и увеличенные в размерах митохондрии. Наблюдается прорастание через наружную пограничную мембрану в субретинальное пространство глиальных отростков, в которых располагаются фрагменты наружных и внутренних сегментов нейросенсорных клеток (рис. 1).

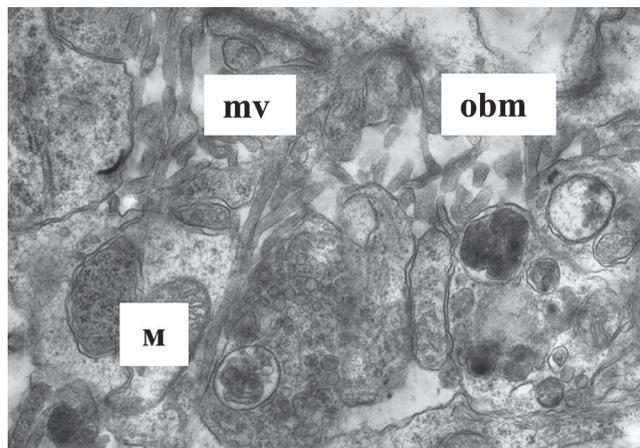


Рис. 1. Прорастание глиальных микроворсинок в субретинальное пространство и деструкция митохондрий во внутренних сегментах нейросенсорных клеток сетчатки после светового облучения (200 лк, 1-е сут). $\times 14\,000$. ОВМ – наружная пограничная мембрана, mv – микроворсинки, М – митохондрии

Между нейронами внутреннего ядерного слоя, на границе с сетчатыми слоями, лежат тела радиальных глиоцитов, содержащие ядра с конденсированным хроматином и многочисленные свободные рибосомы в цитоплазме (рис. 2).

После 1–2 сут высокоинтенсивного светового облучения увеличивается число деструктивно измененных клеток радиальной глии (рис. 3). В них

наблюдается понижение электронной плотности и вакуолизация цитоплазмы склеральных отростков и пикноз ядра. Обращает на себя внимание то, что часто эти клетки лежат на границе внутреннего ядерного и сетчатых слоев. Витреальные отростки имеют обычное строение.

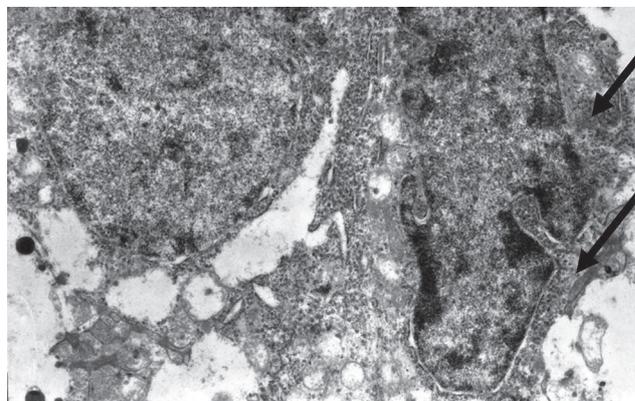


Рис. 2. Повышение уровня конденсации хроматина в ядре и увеличение количества свободных рибосом в цитоплазме радиального глиоцита (стрелки) после светового облучения (200 лк, 1-е сут). $\times 5\,800$

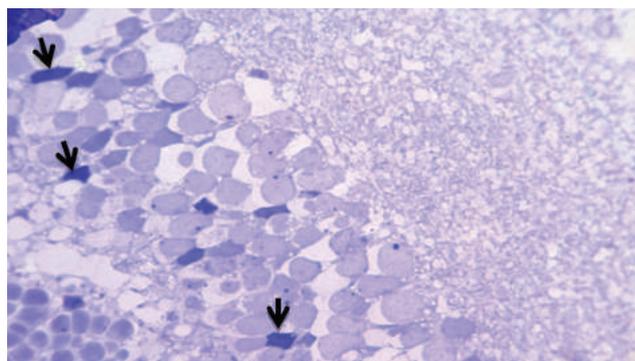


Рис. 3. Пикноз радиальных глиоцитов (стрелки) после светового облучения (3 500 лк, 2-е сут). $\times 900$

После 7–14 сут низкоинтенсивного светового облучения появляются деструктивно измененные нейросенсорные клетки, у которых наблюдается фрагментация большинства наружных и внутренних сегментов и пикноз ядра. Окружающие подобным образом измененные клетки апикальные отростки глиоцитов резко гипертрофированы и содержат повышенное число мембранных комплексов и миелоноподобных тел, а также набухшие митохондрии, лишенные крист и содержащие мелкогранулярный материал.

После 7 сут воздействия светом высокой интенсивности на месте погибших нейросенсорных клеток появляются многослойные глиальные пластины, окружающие их сохранившиеся ядра и контактирующие с биполярными нейронами (рис. 4). Встречаются глиоциты с гипертрофией витреальных отрост-

ков, в которых содержатся набухшие митохондрии, расширенные цистерны эндоплазматической сети и многочисленные осмиофильные гранулы.

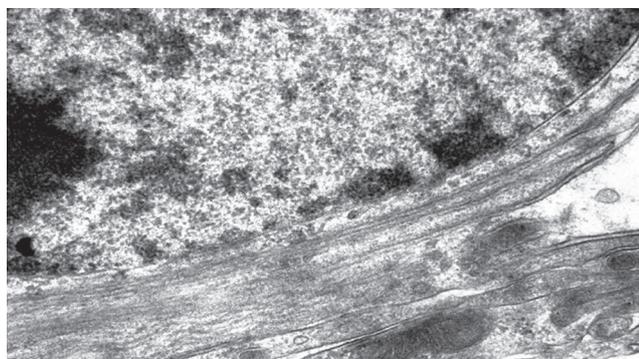


Рис. 4. Многослойные глиальные пластины, окружающие ядро нейросенсорной клетки, после 7 сут светового облучения (3 500 лк). $\times 15\ 000$

После 14 сут высокоинтенсивного светового облучения в очагах массовой гибели нейросенсорных клеток в цитоплазме склеральных отростков большинства глиоцитов наблюдаются понижение электронной плотности, мембранные комплексы и повышение числа вакуолей с осмиофильным содержанием. Большинство ядросодержащих частей глиоцитов, лежащих во внутреннем ядерном слое, обладают строением в соответствии с нормой.

В поздние сроки эксперимента (200 лк, 30 сут) в наружном ядерном слое происходит вакуолизация глиоплазмы и разрастание склеральных отростков радиальных глиоцитов, содержащих фагоцитированные деструктивно измененные ядра нейросенсорных клеток. В аналогичный срок после высокоинтенсивного светового воздействия на месте практически отсутствующего наружного ядерного слоя находятся сильно гипертрофированные отростки радиальных глиоцитов, в них – многочисленные крупные вакуоли и мембранные комплексы.

В медицине используют построение математических моделей при малом числе показателей изучаемого признака для наиболее корректного выявления разнообразных алгоритмов путем построения системы уравнений, описывающих свойства объекта моделирования в различных экспериментальных условиях. В нашем исследовании требовалось оценить число пикноморфных радиальных глиоцитов сетчатой оболочки глаза в динамике после облучения светом (200, 3 500 лк). Для решения поставленной задачи были взяты экспериментальные данные. В результате проведенного анализа данных установлено, что число пикноморфных клеток радиальной глии сетчатки после фотоповреждения описывается уравнением (рис. 5, табл. 1):

$$f(t) = a_0 t^{100} + a_1 t^{200} + a_2 t^{300} + a_3 e^{-t}$$

Рис. 5. Уравнение, описывающее число пикноморфных клеток радиальной глии сетчатки после фотоповреждения: $f(t)$ – число глиоцитов с явлениями пикноза; J – освещенность поверхности; a_i – константы, полученные при анализе экспериментальных данных (табл. 1); t – длительность эксперимента

Таблица 1

Константы, полученные при построении математической модели			
α_0	α_1	α_2	α_3
Свет 200 лк			
8,42	2,235	0,146	2,959
Свет 3 500 лк			
2,087	0,014	0,034	3,411

Анализ полученных при моделировании данных показал, что при облучении низкоинтенсивным (200 лк) светом изменения радиальной глии характеризуются повышением числа пикноморфных глиоцитов в ранние сроки эксперимента и уменьшением их количества при увеличении срока воздействия. Облучение высокоинтенсивным (3 500 лк) светом вызывает похожие структурные изменения клеток радиальной глии, которые характеризуются увеличением численности погибших глиоцитов при повышении времени освещения. Необходимо отметить, что предложенные математические модели подтверждают экспериментальные данные и удачно отображают плавное изменение процесса между данными.

Изучение динамики изменений содержания пикноморфных клеток радиальной глии свидетельствует о том, что на 7-е сут воздействия низкоинтенсивным светом (200 лк) данный показатель в 1,6 раза больше контрольных значений (контроль $3,26 \pm 0,23\%$) (табл. 2).

Таблица 2

Число радиальных глиоцитов сетчатки с явлениями карипикноза после светового облучения различной интенсивности, %	
Контроль	$3,26 \pm 0,23$
1-е сут	
200 лк	$3,72 \pm 0,54$
3 500 лк	$2,91 \pm 0,72$
7-е сут	
200 лк	$5,21 \pm 1,08^*$
3 500 лк	$8,15 \pm 1,82^*$
14-е сут	
200 лк	$6,73 \pm 1,69^*$
3 500 лк	$6,92 \pm 1,28^*$
30-е сут	
200 лк	$3,41 \pm 1,32$
3 500 лк	$6,03 \pm 1,27^*$

* достоверные различия по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$

Увеличение срока облучения (14, 30 сут) приводит к снижению изучаемого параметра и на 30-е сут эксперимента он значительно не отличается от такового в контрольной группе. После 7 сут высокоинтенсивного светового освещения содержание пикноморфных радиальных глиоцитов в 2,5 раза выше контрольных данных и достоверно не меняется до 30-х сут облучения. Повышение изучаемого показателя говорит о срыве компенсаторно-приспособительных механизмов и усилении процессов деструкции во внутренних слоях сетчатки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, глиальные реакции сетчатой оболочки глаза после фотоповреждения носят дозовую и временную зависимость и вносят существенный вклад в процессы деструкции. Наиболее ранние изменения наблюдаются в субретинальном пространстве, выражаясь пролиферацией склеральных отростков радиальных глиоцитов и их фагоцитозом фрагментов деструктивно измененных нейросенсорных клеток. При разрушении слоев, образованных нейросенсорными клетками, в глиоцитах сетчатки наблюдается нарушение метаболизма глутамата, регулирующего синаптическую активность [23–25].

Усиление деструктивных изменений изучаемых клеток приводит к нарушению глионейрональных взаимоотношений в сетчатке и снижению репаративных процессов со стороны нейронов сетчатки [26–29]. В наружном ядерном слое обнаруживаются очаги глиальной пролиферации и появляются многослойные глиальные мембраны, которые окружают ядра нейросенсорных клеток. Значительных ультраструктурных изменений в витреальных отростках радиальных глиоцитов мы не наблюдали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глиальные реакции сетчатой оболочки глаза после фотоповреждения зависят от интенсивности и длительности облучения. По мере увеличения срока облучения в глиоцитах усиливаются дегенеративные изменения, более выражены после высокоинтенсивного (3 500 лк) светового облучения. Разработанная математическая модель дает возможность проанализировать динамику деструктивных изменений радиальной глии сетчатки и прогнозировать результаты фотоповреждения в зависимости от времени и интенсивности облучения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cajochen C., Frey S., Anders D., Späti J., Bues M., Pross A. et al. Evening exposure to a light-emitting diodes (LED)-backlit computer screen affects circadian physiology and cognitive

performance. *J. Appl. Physiol.* 2011;110(5):1432–1438. DOI: 10.1152/jappphysiol.00165.2011.

2. O'Hagan J.B., Khazova M., Price L.L. Low-energy light bulbs, computers, tablets and the blue light hazard. *Eye (London)*. 2016;30(2):230–233. DOI: 10.1038/eye.2015.261.
3. Renard G., Leid J. The dangers of blue light: True story! *J. Fr. Ophthalmol.* 2016;39(5):483–488. DOI: 10.1016/j.jfo.2016.02.003.
4. Van der Lely S., Frey S., Garbazza C., Wirz-Justice A., Jenni O.G., Steiner R. et al. Blue blocker glasses as a countermeasure for alerting effects of evening light-emitting diode screen exposure in male teenagers. *J. Adolesc. Health*. 2015;56(1):113–119. DOI: 10.1016/j.jadohealth.2014.08.002.
5. Li Z., Jia P., Zhao F., Kang Y. The development path of the lighting industry in mainland china: execution of energy conservation and management on mercury emission. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2018 Dec.15;15(12):2883. DOI: 10.3390/ijerph15122883.
6. Moseley H., Ferguson J. The risk to normal and photosensitive individuals from exposure to light from compact fluorescent lamps. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2011 Jun;27(3):131–137. DOI: 10.1111/j.1600-0781.2011.00576.x.
7. Necz P.P., Bakos J. Photobiological safety of the recently introduced energy efficient household lamps. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. 2014 Dec.;27(6):1036–1442. DOI: 10.2478/s13382-014-0332-2.
8. Behar-Cohen F., Martinsons C., Viénot F., Zissis G., Barlier-Salsi A., Cesarini J.P. et al. Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: any risks for the eye? *Prog. Retin. Eye Res.* 2011;30(4):239–257. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2011.04.002.
9. Krigel A., Berdugo M., Picard E., Levy-Boukris R., Jaadane I., Jonet L. Light-induced retinal damage using different light sources, protocols and rat strains reveals LED phototoxicity. *Neuroscience*. 2016;339:296–307. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.10.015.
10. Tao J.X., Zhou W.C., Zhu X.G. Mitochondria as potential targets and initiators of the blue light hazard to the retina. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2019;2019:6435364. DOI: 10.1155/2019/6435364.
11. Jaadane I., Boulenguez P., Chahory S., Carré S., Savoldelli M., Jonet L. et al. Retinal damage induced by commercial light emitting diodes (LEDs). *Free Radic. Biol. Med.* 2015;84:373–384. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.03.034.
12. Jaadane I., Villalpando Rodriguez G.E., Boulenguez P., Chahory S., Carré S., Savoldelli M. et al. Effects of white light-emitting diode (LED) exposure on retinal pigment epithelium *in vivo*. *J. Cell Mol. Med.* 2017;21(12):3453–3466. DOI: 10.1111/jcmm.13255.
13. Shang Y.M., Wang G.S., Sliney D., Yang C.H., Lee L.L. White light-emitting diodes (LEDs) at domestic lighting levels and retinal injury in a rat model. *Environ. Health Perspect.* 2014;122(3):269–276. DOI: 10.1289/ehp.1307294.
14. Shang Y.M., Wang G.S., Sliney D.H., Yang C.H., Lee L.L. Light-emitting-diode induced retinal damage and its wavelength dependency *in vivo*. *Int. J. Ophthalmol.* 2017;10(2):191–202. DOI: 10.18240/ijo.2017.02.03
15. Fisher S.K., Lewis G.P. Müller cell and neuronal remodeling in retinal detachment and reattachment and their potential con-

- sequences for visual recovery: a review and reconsideration of recent data. *Vision Res.* 2003;43(8):887–897. DOI: 10.1016/S0042-6989(02)00680-6.
16. Lewis G.P., Chapin E.A., Luna G., Linberg K.A., Fisher S.K. The fate of Müller's glia following experimental retinal detachment: nuclear migration, cell division, and subretinal glial scar formation. *Mol. Vis.* 2010;16:1361–1372.
 17. Sun D., Moore S., Jakobs T.C. Optic nerve astrocyte reactivity protects function in experimental glaucoma and other nerve injuries. *J. Exp. Med.* 2017;214(5):1411–1430. DOI: 10.1084/jem.20160412.
 18. Albarracin R., Valter K. 670 nm red light preconditioning supports Müller cell function: evidence from the white light-induced damage model in the rat retina. *Photochem. Photobiol.* 2012;88(6):1418–1427. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2012.01130.x.
 19. Jones B.W., Watt C.B., Frederick J.M., Baehr W., Chen C.K., Levine E.M. et al. Retinal remodeling triggered by photoreceptor degenerations. *J. Comp. Neurol.* 2003;464(1):1–16. DOI: 10.1002/cne.10703.
 20. Marc R.E., Jones B.W., Watt C.B., Vazquez-Chona F., Vaughan D.K., Organisciak D.T. Extreme retinal remodeling triggered by light damage: implications for age related macular degeneration. *Mol. Vis.* 2008;14:782–806.
 21. Silverman S.M., Wong W.T. Microglia in the retina: roles in development, maturity, and disease. *Annu. Rev. Vis. Sci.* 2018;4:45–77. DOI: 10.1146/annurev-vision-091517-034425.
 22. Vecino E., Rodriguez F.D., Ruzafa N., Pereiro X., Sharma S.C. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog. Retin. Eye Res.* 2016;51:1–40. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2015.06.003.
 23. Bringmann A., Pannicke T., Grosche J., Francke M., Wiedemann P., Skatchkov S.N. et al. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog. Retin. Eye Res.* 2006;25(4):397–424. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2006.05.003.
 24. Pfeiffer R.L., Marc R.E., Jones B.W. Müller cell metabolic signatures: evolutionary conservation and disruption in disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 2020;31(4):320–329. DOI: 10.1016/j.tem.2020.01.005.
 25. Reichenbach A., Bringmann A. New functions of Müller cells. *Glia.* 2013;61(5):651–678. DOI: 10.1002/glia.22477.
 26. Coughlin B.A., Feenstra D.J., Mohr S. Müller cells and diabetic retinopathy. *Vision Res.* 2017;139:93–100. DOI: 10.1016/j.visres.2017.03.013.
 27. Eastlake K., Luis J., Limb G.A. Potential of Müller glia for retina neuroprotection. *Curr. Eye Res.* 2020;45(3):339–348. DOI: 10.1080/02713683.2019.1648831.
 28. Liu Y., Wang C., Su G. Cellular signaling in Müller glia: progenitor cells for regenerative and neuroprotective responses in pharmacological models of retinal degeneration. *J. Ophthalmol.* 2019;2019:5743109. DOI: 10.1155/2019/5743109.
 29. Wan J., Goldman D. Retina regeneration in zebrafish. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2016;40:41–47. DOI: 10.1016/j.gde.2016.05.009.

Вклад авторов

Потапов А.В., Логвинов С.В., Варакута Е.Ю. – концепция и дизайн исследования. Жданкина А.А., Герасимов А.В., Геренг Е.А. – сбор и обработка материала. Светлик М.В., Петров И.А. – подборка методов статистического анализа и интерпретация данных. Потапов А.В. – написание статьи. Потапов А.В., Логвинов С.В., Солонский А.В. – редактирование статьи.

Информация об авторах

Потапов Алексей Валерьевич – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, potalex@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0468-3959>

Варакута Елена Юрьевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой нормальной анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, СибГМУ, г. Томск, varelen@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3173-5336>

Солонский Анатолий Владимирович – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, anatsol3@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1843-5833>

Логвинов Сергей Валентинович – д-р мед. наук, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, sv_Logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

Герасимов Александр Владимирович – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, a_gerasimov@sibmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

Светлик Михаил Васильевич – канд. биол. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, svetlik.mv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3030-2580>

Жданкина Анна Александровна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, annazhdank@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4954-7416>

Геренг Елена Андреевна – д-р мед. наук, профессор кафедры морфологии, СибГМУ, г. Томск, gereng@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7226-0328>

Петров Илья Алексеевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, obgynsib@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0697-3896>

✉ **Потапов Алексей Валерьевич**, potalex@mail.ru

Поступила в редакцию 25.08.2023;
одобрена после рецензирования 11.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Изучение роли полиморфизмов гена *GCLC* в прогнозировании клинического течения острого алкогольно-алиментарного панкреатита

Самгина Т.А.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)
Россия, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценить роль полиморфных локусов rs12524494, rs17883901, rs606548, rs636933, rs648595, rs761142 гена *GCLC* в прогнозировании клинического течения острого алкогольно-алиментарного панкреатита (ОААП).

Материалы и методы. Материалом исследования послужили образцы ДНК крови, полученные от 547 пациентов с ОААП и 573 здоровых индивидов. Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц – $47,8 \pm 12,1$ года. Генотипирование проводилось на анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4. Определение в плазме крови уровня общего глутатиона проводилось с помощью набора Oxi Select™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312, уровня активных форм кислорода – с помощью набора OxiSelect™ InVitro ROS/RNS AssayKit (Green Fluorescence) STA-347 (Cell Biolabs Inc., США). Для определения уровня амилазы сыворотки крови применяли кинетический колориметрический метод. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistica 10.0 и SNPStats.

Результаты. Установлено, что полиморфные варианты rs606548 (генотип C/C; отношение шансов (OR) 3,34; 95-й доверительный интервал (95% CI) 1,29–8,66; $p = 0,007$), rs648595 (генотип G/T; OR = 1,56; 95% CI 1,04–2,36; $p = 0,029$) и rs12524494 (генотип A/G; $p = 0,021$) гена *GCLC* являются предикторами повышенного риска развития панкреонекроза. Для генотипа T/T rs648595 гена *GCLC* (рецессивная модель) установлены наиболее низкие значения окисленного глутатиона, а генотип G/A rs17883901 *GCLC* ассоциировался с наиболее высокими значениями активных форм кислорода в крови. Предрасположенность к формированию перипанкреатического инфильтрата показал генотип A/A rs761142 *GCLC* (OR = 1,70; 95% CI 1,12–2,59; $p = 0,010$), а псевдокисты – аллель G rs648595 (OR = 1,47; 95% CI 1,01–2,13; $p = 0,042$) гена *GCLC*. Предрасположенность к летальному исходу вследствие развития аррозивного кровотечения ассоциирована с rs17883901 (генотип G/A; OR = 6,20; 95% CI 1,3–28,81; $p = 0,031$) гена *GCLC*.

Заключение. Установленные нами генно-фенотипические ассоциации позволят прогнозировать клиническое течение ОААП у конкретного больного с учетом его генетического статуса и своевременно определять лечебную тактику.

Ключевые слова: острый алкогольно-алиментарный панкреатит, прогнозирование, rs12524494, rs17883901, rs606548, rs636933, rs648595, rs761142, ген *GCLC*

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

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

Соответствие принципам этики. Все лица, участвующие в исследовании, подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (протокол № 3 от 11.03.2013).

Для цитирования: Самгина Т.А. Изучение роли полиморфизмов гена *GCLC* в прогнозировании клинического течения острого алкогольно-алиментарного панкреатита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):86–91. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-86-91>.

Studying the role of *GCLC* gene polymorphisms in predicting the clinical course of acute alcoholic pancreatitis

Samgina T.A.

Kursk State Medical University
3, Karla Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the role of polymorphic loci rs12524494, rs17883901, rs606548, rs636933, rs648595, and rs761142 in the *GCLC* gene in predicting the clinical course of acute alcoholic pancreatitis (AAP).

Materials and methods. The material of the study was blood DNA samples obtained from 547 patients with AAP and 573 healthy individuals. The average age of patients was 48.9 ± 13.1 years, the average age of healthy individuals was 47.8 ± 12.1 years. Genotyping was performed using the MassARRAY 4 Analyzer. Plasma levels of total glutathione were determined using the OxiSelect™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312. The level of reactive oxygen species (ROS) was determined using the OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit (Green Fluorescence) STA-347 (Cell Biolabs Inc., USA). The kinetic colorimetric assay was used to determine the level of amylase in the blood serum. Statistical data processing was performed using the Statistica 10.0 and SNPStats software.

Results. It was found that the polymorphic loci rs606548 (genotype C/C, odds ratio (OR) = 3.34, 95% confidence interval (CI) 1.29–8.66, $p = 0.007$), rs648595 (genotype G/T, OR = 1.56, 95% CI 1.04–2.36, $p = 0.029$), and rs12524494 (genotype A/G, $p = 0.021$) in the *GCLC* gene were predictors of an increased risk of necrotizing pancreatitis. For the genotype T/T of rs648595 (recessive model) in the *GCLC* gene, the lowest values of oxidized glutathione were found, whereas rs17883901 – G/A in the *GCLC* gene was associated with the highest ROS values in the blood. The rs761142 A/A genotype in the *GCLC* gene (OR = 1.70, 95% CI 1.12–2.59; $p = 0.010$) showed predisposition to acute peripancreatic fluid collection, and the rs648595 G allele (OR = 1.47, 95% CI 1.01–2.13; $p = 0.042$) in the *GCLC* gene exhibited predisposition to the formation of acute pancreatic pseudocysts. Predisposition to massive bleeding was associated with rs17883901 (G/A genotype, OR = 6.20, 95% CI 1.3–28.81; $p = 0.031$) in the *GCLC* gene.

Conclusion. The established genotype – phenotype associations will make it possible to predict the clinical course of AAP in a particular patient, taking into account their genetic makeup, as well as to determine the treatment strategy in a timely manner.

Keywords: acute pancreatitis, predicting, rs12524494, rs17883901, rs606548, rs636933, rs648595, rs761142, *GCLC* gene

Conflict of interest. The author declares the absence of obvious and 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 regional Ethics Committee at Kursk State Medical University (Protocol No. 3 of 11.03.2013).

For citation: Samgina T.A. Studying the role of *GCLC* gene polymorphisms in predicting the clinical course of acute alcoholic pancreatitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):86–91. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-86-91>.

ВВЕДЕНИЕ

Ведущая роль окислительного стресса в патогенезе острого алкогольно-алиментарного панкреатита (ОААП) не вызывает сомнений [1, 2].

Мощным антиоксидантом, обладающим восстановительными и детоксикационными свойствами,

является глутатион [3], который синтезируется в две АТФ-зависимые стадии из аминокислот L-цистеина, L-глутаминовой кислоты и глицина: на 1-й стадии синтезируется γ -глутамилцистеин ферментом γ -глутамилцистеинсинтетазой (или глутаматцистеинлигазой).

На 2-й стадии фермент глутатионсинтетаза присоединяет остаток глицина к С-концевой группе γ -глутамилцистеина лимфоцитов [4]. Наблюдаемый при остром панкреатите дефицит глутатиона в поджелудочной железе вызван его недостаточным синтезом [4]. Изучение генов, кодирующих ферменты метаболизма глутатиона, является обоснованным и актуальным.

Глутаматцистеинлигаза – главный фермент, отвечающий за синтез глутатиона. Гетеродимер *GCL* состоит из двух субъединиц: каталитической (*GCLC*), которая обеспечивает каталитическую активность фермента, и регуляторной (*GCLM*), повышающей каталитическую эффективность [3, 4].

Определение роли отдельных полиморфных локусов генов ферментов метаболизма глутатиона в развитии и исходе острого алкогольно-алиментарного панкреатита позволит прогнозировать клиническое течение, а также определять тактику ведения пациента с учетом его генетического статуса.

Цель исследования: оценить роль полиморфных локусов rs12524494,rs17883901,rs606548,rs636933,rs648595,rs761142 гена *GCLC* в прогнозировании клинического течения острого алкогольно-алиментарного панкреатита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы и пролечены 547 больных с ОААП (154 женщины и 393 мужчины) русской национальности (самоидентифицированы), находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях больниц г. Курска – клинических базах кафедры хирургических болезней № 2 – в период 2015–2021 гг.

Материалом исследования послужили образцы крови ДНК, полученные от 547 пациентов с ОААП и 573 (161 женщина и 412 мужчин) здоровых индивидов и отобранные в процессе проведенных за этот же период медицинских профилактических осмотров. Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц – $47,8 \pm 12,1$ года. Диагностику ОААП проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов.

Проведенное исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. От всех пациентов получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Определение в плазме крови уровня общего глутатиона проводилось с помощью набора Oxi Select™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312, уровня активных форм кислорода – с помощью набора Oxi Select™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit (Green Fluorescence) STA-347 (Cell Biolabs Inc., США). Для определения уровня амилазы сыворотки крови применяли кинетический колориметрический метод.

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование полиморфных локусов проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF Mass ARRAY-4 производства Agena Bioscience (США).

Для сравнения категориальных переменных между группами использовали критерий χ^2 , для сравнения количественных переменных – критерии Стьюдента (для нормально распределенных признаков) и Манна – Уитни. Предварительная проверка согласия с нормальным законом проводилась с помощью теста Колмогорова – Смирнова. Данные представлены в виде абсолютного и относительного значения n (%), медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1-Q_3)$.

Ассоциации аллелей и генотипов с риском развития ОААП оценивали по величине отношения шансов (OR) – показателю, показывающему, во сколько раз вероятность попасть в группу «случай» (больных) отличается от вероятности попасть в группу контроля (здоровые индивиды) для носителя рассматриваемого аллеля или генотипа. Расчет отношения шансов и 95%-го доверительного интервала (95% CI) проводился методом логистического регрессионного анализа с коррекцией по полу и возрасту с помощью статистического пакета SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats/start.htm>). Логистический регрессионный анализ также использовался для оценки ассоциаций ДНК-маркеров с клиническими характеристиками (клинические формы, симптомы, характер течения, степень тяжести болезни, эффективность лечения). Поправка на множественность тестов осуществлялась процедурой пермутационных тестов (P_{perm}) с использованием программы PLINK.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика клинических форм и осложнений ОААП в основной группе пациентов представлена в табл. 1.

Умерли 15 пациентов, причинами летального исхода стали полиорганная недостаточность, гнойно-септические осложнения (8) и аррозивное кровотечение (7). Проведен анализ ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов гена *GCLC* с риском развития ОААП (табл. 2).

Таблица 1

Характеристика клинических форм и осложнений остро́го алкогольно-алиментарного панкреатита в основной группе пациентов	
Показатель	Количество пациентов, <i>n</i> (%)
Клинические формы ОААП	
Отечный панкреатит	281 (51,3)
Стерильный панкреонекроз	143 (26,1)
Инфицированный панкреонекроз	123 (22,4)
Всего	547 (100)
Осложнения ОААП	
Перитонит	120 (21,9)
Перипанкреатический инфильтрат	154 (28,4)
Псевдокиста	101 (18,5)
Абсцесс ПЖ и гнойно-некротический парапанкреатит	111 (20,3)

Выявление генетических маркеров, увеличивающих риск развития панкреонекроза у больных с острым панкреатитом в самой ранней стадии начала болезни, представлялось наиболее важным. Мы проанализировали ассоциации исследуемых SNPs с риском развития панкреонекроза, используя данные только больных ОААП.

В результате было установлено, что полиморфные варианты rs606548 (генотип C/C; OR = 3,34; 95% CI 1,29–8,66; $p = 0,007$), rs648595 (генотип G/T; OR = 1,56; 95% CI 1,04–2,36; $p = 0,029$) и rs12524494 (генотип A/G; $p = 0,021$) гена *GCLC* являются предикторами повышенного риска развития панкреонекроза. Причем все выявленные ассоциации ДНК-маркеров не зависели от пола и возраста пациентов.

Таблица 2

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов гена <i>GCLC</i> с риском развития остро́го алкогольно-алиментарного панкреатита						
Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Количество индивидов, <i>n</i> (%)		P_{perm}	p^1	OR (95% CI) _{cor}
		Здоровые ($n = 573$)	Больные ОААП ($n = 547$)			
<i>GCLC</i> A>G (rs12524494)	A/A	397 (97,3)	420 (95)	0,01 ^R	0,014	1,00
	A/G	7 (1,7)	21 (4,8)			2,84 (1,19–6,74)
	G/G	4 (1)	1 (0,2)			0,24 (0,03–2,12)
	G	0,02	0,03			1,43 (0,74–2,75)
<i>GCLC</i> G>A (rs17883901)	G/G	472 (86,9)	469 (88)	0,5 ^D	0,422	1,00
	G/A	68 (12,5)	58 (10,9)			0,86 (0,59–1,25)
	A/A	3 (0,6)	6 (1,1)			2,01 (0,50–8,09)
	A	0,066	0,068			0,96 (0,69–1,35)
<i>GCLC</i> C>T (rs606548)	C/C	471 (95,7)	438 (93,4)	0,05 ^D	0,160	1,00
	C/T	21 (4,3)	30 (6,4)			1,54 (0,87–2,72)
	T/T	0 (0)	1 (0,2)			–
	T	0,02	0,03			1,62 (0,93–2,83)
<i>GCLC</i> G>A (rs636933)	G/G	290 (60,8)	288 (61,8)	0,41 ^R	0,463	1,00
	G/A	172 (36,1)	157 (33,7)			0,92 (0,70–1,21)
	A/A	15 (3,1)	21 (4,5)			1,41 (0,71–2,79)
	A	0,21	0,21			1,01 (0,81–1,26)
<i>GCLC</i> G>T (rs648595)	T/T	153 (30,5)	126 (26,6)	0,17 ^D	0,342	1,00
	G/T	255 (50,9)	261 (55,1)			1,24 (0,93–1,66)
	G/G	93 (18,6)	87 (18,4)			1,14 (0,78–1,65)
	T	0,56	0,54			0,93 (0,78–1,11)
<i>GCLC</i> C>A (rs761142)	A/A	271 (53,8)	266 (54,9)	0,72 ^R	0,741	1,00
	C/A	212 (42,1)	195 (40,2)			0,94 (0,72–1,21)
	C/C	21 (4,2)	24 (5)			1,16 (0,63–2,14)
	A	0,75	0,75			1,01 (0,82–1,23)

Примечание. R – рецессивная модель, D – доминантная модель (здесь и в табл. 3). 1 уровень значимости ассоциации (кодоминантная модель) с риском развития ОААП с коррекцией по полу и возрасту.

Однако со степенью тяжести остро́го панкреатита (легкая, средняя и тяжелая степени) ассоциации изучаемых SNPs гена *GCLC* мы не обнаружили. Также нами были исследованы связи полиморфных локусов гена *GCLC* с промежуточными фенотипами остро́го

панкреатита у больных: уровнем окисленного глутатиона (GSSG), уровнем активных форм кислорода (ROS), уровнем амилазы и лейкоцитов в крови.

В табл. 3 представлены данные по ассоциациям полиморфных вариантов генов с количе-

ственными показателями крови больных острым панкреатитом.

Установлено влияние полиморфных вариантов генов каталитической и модифицирующей субъединиц глутаматцистеинлигазы с уровнем окисленного глутатиона в крови. Наиболее низкие значения GSSG установлены для генотипа T/T rs648595 гена *GCLC* (рецессивная модель). Генотипы G/A rs17883901 *GCLC* ассоциировались с наиболее высокими значениями ROS в крови. В отношении других исследованных нами полиморфных локусов гена не установлены статистически значимые влияния генотипов.

Нами были проанализированы ассоциации исследуемых полиморфных локусов гена *GCLC* с риском развития осложнений ОААП. Установлено, что rs761142 *GCLC* (генотип A/A; OR = 1,70; 95% CI 1,12–2,59; $p = 0,010$) показал предрасположенность к формированию перипанкреатического инфильтрата, а rs648595 (аллель G; OR = 1,47; 95% CI 1,01–2,13; $p = 0,042$) гена *GCLC* – к формированию псевдокисты.

Предрасположенность к развитию аррозивного кровотечения и летальному исходу ассоциирована с rs17883901 (генотип G/A; OR = 6,20; 95% CI 1,3–28,81; $p = 0,031$) гена *GCLC*.

Таблица 3

Установленные связи исследованных полиморфных вариантов генов с количественными показателями крови больных ОААП													
Ген (локус)	Генотипы	Окисленный глутатион, мкмоль/л			Активные формы кислорода, нМ			Лейкоциты, $\times 10^9$			Амилаза, Ед/л		
		Me	Q_1-Q_3	p	Me	Q_1-Q_3	p	Me	Q_1-Q_3	p	Me	Q_1-Q_3	p
1	2	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>GCLC</i> (rs648595)	G/G	10,51	3,83–12,41	0,041 ^R	3,59	2,26–4,22	0,471	7,95	6,60–12,10	0,921	164,0	92,0–244,0	0,812
	G/T	4,59	3,16–8,51		2,32	1,60–3,39		8,20	6,60–12,90		168,0	87,0–300,0	
	T/T	4,61	2,03–8,08		2,73	2,18–3,65		7,90	6,60–12,60		148,0	84,0–280,0	
<i>GCLC</i> (rs17883901)	G/G	5,93	3,11–10,41	0,752	2,52	1,98–3,69	0,040 ^P	8,80	6,70–12,80	0,823	164,0	85,0–272,0	0,840
	G/A	5,74	2,89–8,50		5,00	1,19–5,25		7,80	6,40–12,35		96,0	68,0–195,0	
	A/A	3,29	3,29–3,29		2,18	2,18–2,18		8,30	6,70–9,90		–	–	

ОБСУЖДЕНИЕ

Снижение уровня восстановленного глутатиона в поджелудочной железе, наблюдаемое при остром панкреатите, вызвано его расщеплением [5], что свидетельствует о недостаточно эффективной активации системы синтеза GSH в клетках и способствует развитию деструктивного панкреатита. Однако в течение 12–24 ч происходит перераспределение GSH в пользу очага воспаления за счет эндогенных резервов [6], поскольку бета-клетки демонстрируют низкую экспрессию антиоксидантных ферментов [7].

J. Pereda с соавт. установили, что уровень GSH оставался низким при панкреонекрозе в течение нескольких часов без увеличения уровня содержания фермента или мРНК субъединиц глутаматцистеинлигазы, несмотря на связывание РНК-полимеразы II с их промоторами и кодирующими областями. Напротив, при отечном панкреатите уровень GSH быстро восстанавливался, а экспрессия белка заметно увеличивалась из-за усиленной транскрипции, опосредованной влиянием с-MYC, NF-kB и SP-1 на промоторы, а повышения активности цитозольной рибонуклеазы в этом случае не обнаружено [8].

В результате проведенного исследования нами было установлено, что полиморфные варианты rs606548 (генотип C/C; OR = 3,34; 95% CI 1,29–8,66;

$p = 0,007$), rs648595 (генотип G/T; OR = 1,56; 95% CI 1,04–2,36; $p = 0,029$) и rs12524494 (генотип A/G; $p = 0,021$) гена *GCLC* являются предикторами повышенного риска развития панкреонекроза. Для генотипа T/T rs648595 гена *GCLC* (рецессивная модель) установлены наиболее низкие значения окисленного глутатиона, а генотип G/A rs17883901 *GCLC* ассоциировался с наиболее высокими значениями ROS в крови. Предрасположенность к формированию перипанкреатического инфильтрата показал генотип A/A rs761142 *GCLC* (OR = 1,70; 95% CI 1,12–2,59; $p = 0,010$), а псевдокисты – аллель G rs648595 (OR = 1,47; 95% CI 1,01–2,13; $p = 0,042$) гена *GCLC*. Предрасположенность к летальному исходу вследствие развития аррозивного кровотечения ассоциирована с rs17883901 (генотип G/A; OR = 6,20; 95% CI 1,3–28,81; $p = 0,031$) гена *GCLC*.

Эффект изученных нами полиморфных вариантов гена *GCLC* при панкреатите ранее не исследовался. Но при изучении сахарного диабета 2-го типа было установлено, что SNPs rs17883901, rs636933, rs648595 гена *GCLC* обладают протективным эффектом в отношении развития заболевания, и их эффекты опосредованы повышенным уровнем GSH [9].

Для анализа влияния исследуемых полиморфных вариантов на экспрессию генов в поджелудочной

железе, печени и крови мы использовали биоинформатические ресурсы базы данных GTEx. Установлено, что полиморфные варианты rs636933, rs648595 и rs761142 ассоциированы с увеличением экспрессии гена *GCLC* в поджелудочной железе ($p \leq 0,0002$) и печени за исключением rs636933 ($p \leq 0,02$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленные нами генно-фенотипические ассоциации позволят прогнозировать клиническое течение острого алкогольно-алиментарного панкреатита у конкретного больного с учетом его генетического статуса и своевременно определять лечебную тактику.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кубышкин В.А., Затевахин И.И., Багненко С.Ф., Благовестнов Д.А., Вишневский В.А., Гальперин Э.И. Национальные клинические рекомендации по острому панкреатиту. *Российское общество хирургов. Официальный сайт «Российское общество хирургов»*, 2019:54.
2. Lee P.J., Papachristou G.I. New insights into acute pancreatitis. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2019;16(8): 479–496. DOI: 10.1038/s41575-019-0158-2.
3. Flohé L. (ed.). *Glutathione* (1st ed.). CRC Press, 2018:410. DOI: 10.1201/9781351261760.
4. Cotgreave I.A., Weis M., Atzori L., Moldéus P. Glutathione and protein function. *In Glutathione: Metabolism and Physiological Functions*. CRC Press, 2017:155–176.
5. Bachhawat A.K., Yadav S. The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. *Iubmb Life*. 2018;70(7):585–592. DOI: 10.1002/iub.1756.
6. Прокопьева Н.В., Гуляева Л.Ф. Изменение активности глутатион S-трансферазы печени при остром панкреатите и применение индукторов в различные сроки заболевания. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2000;129(5):542–543. DOI: 10.1007/BF02439801.
7. Kang J.H., Chang S.Y., Jang H.J., Cho J.M., Kim D.B., Lee S.S. et al. Quercetin-induced upregulation of human GCLC gene is mediated by cis-regulatory element for early growth response protein-1 (EGR1) in INS-1 beta-cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2009;108(6):1346–1355. DOI: 10.1002/jcb.22365.
8. Pereda J., Escobar J., Sandoval J., Rodríguez J.L., Sabater L., Pallardó F.V. et al. Glutamate cysteine ligase up-regulation fails in necrotizing pancreatitis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008;44(8):1599–1609. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.018.
9. Azarova I., Klyosova E., Lazarenko V. Genetic variants in glutamate-cysteine-ligase confer protection against type 2 diabetes. *Mol. Biol.* 2020;47(8):5793–5805. DOI: 10.1007/s11033-020-05647-5.

Информация об авторе

Самгина Татьяна Александровна – канд. мед. наук, доцент, кафедра хирургических болезней № 2; науч. сотрудник, НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, КГМУ, г. Курск, tass@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7781-3793>

(✉) Самгина Татьяна Александровна, tass@list.ru

Поступила в редакцию 06.06.2022;
одобрена после рецензирования 02.03.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Сигнальный путь Notch в развитии дисбаланса иммунных реакций у больных диссеминированным туберкулезом легких

Санина А.Е., Серебрякова В.А., Уразова О.И., Гаджиев А.А.

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

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Определить роль сигнального пути Notch в регуляции баланса Th1/Th2-лимфоцитов у больных диссеминированным лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) туберкулезом легких (ТЛ).

Материалы и методы. Из венозной крови 13 пациентов с диссеминированным ТЛ мононуклеарные лейкоциты выделяли методом градиентного центрифугирования. Клетки культивировали в течение 72 ч в полной питательной среде при 5%-м CO₂ и температуре 37 °С, предварительно добавляя в инкубационную среду антигены микобактерий туберкулеза CFP10-ESAT6 или ингибитор γ -секретазы DAPT (5 мкМ/л; 10 мкМ/л) вместе с антигенами CFP10-ESAT6. Иммунофенотипирование Th1- и Th2-лимфоцитов проводили методом проточной лазерной многоцветной цитофлуориметрии посредством определения экспрессии рецептора CD4 и внутриклеточных транскрипционных факторов T-bet и GATA-3.

Результаты. У больных диссеминированным ЛЧ и ЛУ ТЛ установлено увеличение количества Th1- и Th2-лимфоцитов в интактных культурах. Стимуляции клеток антигенами микобактерий CFP10-ESAT6 способствовала повышению числа CD4⁺T-bet⁺ и CD4⁺GATA-3⁺ клеток во всех группах сравнения. Добавление в инкубационную среду антигенов CFP10-ESAT6 и DAPT (10 мкМ/л) сопровождалось уменьшением количества Th2-лимфоцитов у больных ТЛ обеих групп. Повышение числа Th1-клеток регистрировалось только у пациентов с ЛЧ ТЛ. Подавление сигнального пути Notch с помощью ингибитора γ -секретазы – DAPT (10 мкМ/л) приводило к повышению коэффициента соотношения Th1/Th2-лимфоцитов как при ЛЧ, так и при ЛУ вариантах заболевания.

Заключение. Сигнальный путь Notch оказывает модулирующее действие на дифференцировку ключевых популяций лимфоцитов, определяющих динамический баланс клеточно-опосредованных и гуморальных реакций противотуберкулезного иммунитета. Угнетение молекулярного каскада Notch ингибитором γ -секретазы DAPT (10 мкМ/л) в условиях *in vitro* способствует увеличению коэффициента соотношения Th1/Th2 у больных диссеминированным ЛЧ и ЛУ ТЛ. Положительное регулирующее действие на баланс Th1/Th2-клеток позволяет рассматривать сигнальный путь Notch в качестве перспективной потенциальной мишени в разработке новых подходов к патогенетической терапии туберкулеза.

Ключевые слова: Notch-сигнальный путь, туберкулез легких, лимфоциты, γ -секретазы, Т-хелперы

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках плановой темы НИР Сибирского государственного медицинского университета по программе САЕ «Молекулярная медицина» (Молекулярно-клеточные основы воспаления при социально значимой патологии).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 7924 от 14.10.2019).

Для цитирования: Санина А.Е., Серебрякова В.А., Уразова О.И., Гаджиев А.А. Сигнальный путь Notch в развитии дисбаланса иммунных реакций у больных диссеминированным туберкулезом легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):92–99. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-92-99>.

Notch signaling pathway in the development of imbalanced immune responses in patients with disseminated pulmonary tuberculosis

Sanina A.E., Serebryakova V.A., Urazova O.I., Gadzhiev A.A.

Siberian State Medical University
2 Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To determine the role of the Notch signaling pathway in the regulation of Th1 / Th2 lymphocyte balance in patients with disseminated drug-sensitive (DS) and drug-resistant (DR) pulmonary tuberculosis (PT).

Materials and methods. Mononuclear leukocytes were isolated from the venous blood of 13 patients with disseminated PT by density gradient centrifugation. The cells were cultured for 72 h in the complete cell culture medium at 5% CO₂ and 37 °C. Preliminarily, CFP10 and ESAT6 mycobacterial antigens or γ -secretase inhibitor DAPT (5 μ M / l; 10 μ M / l) together with CFP10 and ESAT6 antigens were added to the culture medium. Immunophenotyping of Th1 and Th2 lymphocytes was performed by multicolor flow cytometry by determining the expression of CD4 receptor and intracellular transcription factors T-bet and GATA-3.

Results. In patients with disseminated DS and DR PT, an increase in the number of Th1 and Th2 lymphocytes was found in intact cultures. Stimulation of cells with mycobacterial antigens CFP10 and ESAT6 resulted in an increase in the number of CD4⁺T-bet⁺ and CD4⁺GATA-3⁺ cells in all comparison groups. Addition of CFP10 and ESAT6 antigens and DAPT (10 μ M / l) to the incubation medium was accompanied by a decrease in the number of Th2 lymphocytes in PT patients in both groups. A rise in the number of Th1 cells was registered only in patients with DS PT. Suppression of the Notch signaling pathway with the γ -secretase inhibitor DAPT (10 μ M / l) resulted in an increase in the Th1 / Th2 lymphocyte balance in both DS and DR variants of the disease.

Conclusion. The Notch signaling pathway has a modulating effect on the differentiation of the key lymphocyte populations that determine the balance between cell-mediated and humoral immune responses to PT. Suppression of the Notch signaling cascade by the γ -secretase inhibitor DAPT (10 μ M / l) *in vitro* promotes an increase in the Th1 / Th2 ratio in patients with disseminated DS and DR PT. The positive regulatory effect on the Th1 / Th2 lymphocyte balance allows to consider the Notch signaling pathway as a promising potential target in the development of new approaches to the pathogen-specific therapy for PT.

Keywords: Notch signaling pathway, pulmonary tuberculosis, lymphocytes, γ -secretase, helper T cells

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

Source of financing. The study was performed within the planned research topic of Siberian State Medical University under the program “Molecular medicine” (Molecular and cellular basis of inflammation in socially sensitive pathology).

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 Siberian State Medical University (Protocol No 7924 of 14.10.2019).

For citation: Sanina A.E., Serebryakova V.A., Urazova O.I., Gadzhiev A.A. Notch signaling pathway in the development of imbalanced immune responses in patients with disseminated pulmonary tuberculosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):92–99. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-92-99>.

ВВЕДЕНИЕ

В основе прогрессирующего течения туберкулезной инфекции лежит гиперергическая воспалительная реакция с участием широкого спектра иммунокомпетентных клеток [1, 2]. Популяция Th2-лимфоцитов, регулирующая развитие антитело-опосредованных реакций иммунитета, в кооперации с Th1-клетками участвует в формировании протективного ответа [3, 4] и, напротив, может способствовать иммуноопосредованному повреждению тканей и персистенции микобактерий [5, 6]. Установлено, что более тяжелое течение туберкулеза легких ассоциировано с увеличением концентрации в крови мРНК IL-4 [6, 7], высокими титрами антиген-специфических IgG и повышенной экспрессией мРНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS3 [7].

Множественные взаимодействия между клетками иммунной системы детерминируются не только цитокинами и хемокинами (IFN γ , TNF α , IL-4, IL-12, IL-27 и др.), но и лиганд-рецепторными взаимодействиями [8, 9]. Определяющую позицию среди рецепторных механизмов кооперации занимают лиганды и рецепторы Notch, связанные с внутриклеточным сигнальным каскадом реакций, регулирующих дифференцировку клеток [10]. Дисфункция молекулярных механизмов сигнального пути Notch на любом этапе реализации (экспрессия рецепторов, лигандов, активность ферментов и т.д.) может вносить вклад в нарушение формирования эффективного иммунного ответа против микобактерий туберкулеза и способствовать прогрессирующему течению заболевания. Так, в экспериментах на макрофагах мышей установлено, что индуцированное BCG увеличение экспрессии белка рецептора Notch1 и последующая активация его сигнального пути приводят к повышению экспрессии белка SOCS3, обеспечивающего негативный контроль передачи сигналов цитокинов [11]. Продемонстрированное у больных туберкулезом увеличение экспрессии лейкоцитами молекул, инициирующих сигнальный каскад Notch – мРНК Notch1/2 и DLL4, без изменения экспрессии их генов-мишеней (Hes1, Hey1) [12] оставляет открытым вопрос о роли сигнального пути Notch в иммунопатогенезе туберкулеза.

Одним из молекулярных подходов, позволяющих оценить участие сигнального каскада Notch в патогенезе различных иммуноопосредованных заболеваний, является подавление активности γ -секретазы – ключевого протеолитического фермента, инициирующего высвобождение внутриклеточного домена Notch-рецептора [13]. В качестве потенциального лекарственного средства для лечения онкологических,

неврологических, сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний активно изучаются свойства ингибитора γ -секретазы – DAPT (N-[N-(3,5-дифторфенацетил)-1-аланил]-s-фенилглицин-бутиловый эфир) [14].

Цель исследования. Определить роль сигнального пути Notch в регуляции баланса Th1- и Th2-лимфоцитов у больных диссеминированным лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) туберкулезом легких (ТЛ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 13 пациентов с впервые выявленным диссеминированным ТЛ (средний возраст $47,3 \pm 5,21$ лет), находившихся на стационарном лечении в ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр».

Пациенты были разделены на две группы в зависимости от чувствительности микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным средствам: первая группа – 7 пациентов, выделяющих микобактерии, резистентные к одному и более противотуберкулезным средствам (изониазиду и рифампицину); вторую – 6 пациентов, выделяющих лекарственно-чувствительные микобактерии. Контрольную группу составили 10 здоровых добровольцев с сопоставимыми характеристиками по возрасту и полу.

Материалом исследования служила цельная венозная кровь, взятая до начала лечения противотуберкулезными средствами. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови методом градиентного центрифугирования ($\rho = 1,077$ г/мл). В среду для инкубации вносили антигены микобактерий туберкулеза (АГ) CFP10-ESAT6 («Диаскинтест», Generium, Россия) в дозе 10 мкг/мл или ингибитор γ -секретазы DAPT (Tocris Bioscience, Великобритания) в дозе 5 или 10 мкМ/л, предварительно растворенный в 0,1%-м растворе диметилсульфоксида (ДМСО) (Sigma-Aldrich, США), в комбинации с АГ CFP10-ESAT6. Указанная доза была определена при оценке цитотоксичности аллергена туберкулезного рекомбинантного CFP10/ESAT-6 МТТ-тестом. ДМСО и ингибитор γ -секретазы в указанных концентрациях не вызывали гибели клеток в условиях *in vitro*.

Для культивирования клеток использовали питательную среду RPMI-1640 с L-глутамином (ООО «БиолоТ», Россия); клетки инкубировали в газовой среде 5%-го CO $_2$ при 37 °C в течение 72 ч. Иммунофенотипирование Th1- и Th2-лимфоцитов проводили методом проточной лазерной многоцветной цитометрии путем определения экспрессии поверхностного рецептора CD4 (FITC, BD Biosciences, США) и внутриклеточных транскрипционных факторов – T-bet

(Alexa Fluor 405, R&D Systems Inc., США) и GATA-3 (PerCP-eFluor 710, BD Biosciences, США).

Полученный статистический материал обрабатывали в пакете прикладных программ IBM SPSS statistics 25 (Statistical Package for the Social Sciences, США) и Microsoft Office 2013. Тест Шапиро – Уилка использовали для проверки соответствия выборочных данных нормальному распределению. В качестве средних выборочных характеристик вычисляли медиану и интерквартильный размах $Me (Q_1-Q_3)$, так как количественные параметры в группах исследования не подчинялись нормальному закону распределения. Непараметрический U -критерий Манна – Уитни использовали для оценки уровня статистической значимости различий количественных показателей между исследуемыми выборками. Критерий

Вилкоксона применяли для оценки значимости различий зависимых данных внутри группы. Результаты статистического анализа считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенное исследование показало, что развитие диссеминированного туберкулеза легких сопровождалось увеличением количества клеток $CD4^+T\text{-bet}^+$. Так, у больных ЛЧ формой заболевания число Th1-лимфоцитов превышало аналогичные показатели у здоровых доноров в 2 раза ($p < 0,01$), а у пациентов с ЛУ ТЛ – в 1,7 раза ($p < 0,01$). Содержание Th2-лимфоцитов в интактных культурах у больных ТЛ с разными видами устойчивости микобактерий было в 2,5 раза выше ($p < 0,001$), чем у здоровых лиц (табл. 1).

Таблица 1

Относительное содержание Th1- и Th2-лимфоцитов в периферической крови (% от общего числа лимфоцитов) у больных диссеминированным туберкулезом легких, $Me (Q_1-Q_3)$			
Показатель	Здоровые доноры	Больные туберкулезом легких	
		Лекарственно-чувствительный	Лекарственно-устойчивый
Th1-лимфоциты ($CD4^+T\text{-bet}^+$)			
Интактная культура	1,25 (1,12–1,37)	2,51 (2,48–2,59) $p_1 < 0,001$	2,19 (2,17–2,22) $p_1 < 0,001$ $p_4 = 0,008$
С добавлением АГ (CFP10-ESAT6)	1,30 (1,18–1,42) $p_2 = 0,012$	2,54 (2,51–2,66) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,041$	2,34 (2,31–2,34) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$ $p_4 = 0,008$
С добавлением АГ и DAPT (5 мкМ/л)	1,37 (1,21–1,44) $p_2 = 0,012$ $p_3 = 0,012$	2,56 (2,52–2,64) $p_1 < 0,001$	2,30 (2,27–2,31) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,042$ $p_4 = 0,008$
С добавлением АГ и DAPT (10 мкМ/л)	1,95 (1,7–2,04) $p_2 = 0,012$ $p_3 = 0,012$	2,68 (2,63–2,73) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$ $p_3 = 0,043$	2,34 (2,29–2,37) $p_1 < 0,001$ $p_4 = 0,008$
Th2-лимфоциты ($CD4^+GATA-3^+$)			
Интактная культура	1,04 (0,99–1,01)	2,57 (2,49–2,63) $p_1 < 0,001$	2,67 (2,65–2,69) $p_1 < 0,001$
С добавлением АГ (CFP10-ESAT6)	1,12 (1,08–1,14) $p_2 = 0,012$	2,73 (2,64–2,73) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$	2,70 (2,68–2,71) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$
С добавлением АГ и DAPT (5 мкМ/л)	0,91 (0,82–0,98) $p_3 = 0,012$	2,65 (2,61–2,65) $p_1 < 0,001$	2,68 (2,62–2,69) $p_1 < 0,001$
С добавлением АГ и DAPT (10 мкМ/л)	0,68 (0,63–0,72) $p_2 = 0,012$ $p_3 = 0,012$	2,19 (2,18–2,21) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$ $p_3 = 0,043$	2,18 (2,13–2,19) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,043$ $p_3 = 0,043$

Примечание (здесь и в табл. 2): p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров; p_2 – в интактной культуре; p_3 – при стимуляции антигенами (АГ); p_4 – у больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких; DAPT – N-[N-(3,5-Difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester – N-[N-(3,5-дифторфенацетил)-L-аланил]-S-фенилглицин трет-бутиловый эфир.

После стимуляции клеток антигенами микобактерий CFP10-ESAT6 во всех исследуемых группах регистрировалось увеличение количества Th1- и Th2-клеток.

Анализ популяционного состава лимфоцитов у больных ЛЧ и ЛУ ТЛ после последовательного добавления в интактные культуры ингибитора γ -секретазы (DAPT) в концентрации 5 мкМ/л в комплексе с антигенами CFP10-ESAT6 не позволил установить значимых различий с соответствующими данными, полученными при стимуляции клеток только антигенами. У здоровых доноров регистрировалось статистически значимое ($p = 0,012$) снижение числа $CD4^+GATA-3^+$ и увеличение количества $CD4^+T-bet^+$ лимфоцитов (см. табл. 1).

Повышение концентрации DAPT до 10 мкМ/л приводило к уменьшению доли Th2-клеток в культурах клеток у больных ТЛ обеих групп ($p = 0,043$) и здоровых доноров ($p = 0,012$). Изменения числа $CD4^+T-bet^+$ -лимфоцитов были неоднозначными. Так, повышение числа Th1-клеток регистрировалось только у пациентов с ЛЧ ТЛ ($p = 0,043$) и в группе контроля ($p = 0,012$). У больных ЛУ ТЛ

количество $CD4^+T-bet^+$ -лимфоцитов было сопоставимым с аналогичными показателями, полученными в условиях инкубации клеток с антигенами CFP10-ESAT6.

Сравнение полученных результатов между группами больных ТЛ показало, что во всех применяемых условиях культивирования число Th1-лимфоцитов у пациентов с ЛУ-вариантом заболевания было ниже ($p = 0,008$), чем у больных, инфицированных микобактериями, чувствительными к основным противотуберкулезным средствам.

Расчет коэффициента соотношения популяций лимфоцитов Th1/Th2 позволил установить статистически значимые различия для показателей, полученных при инкубации мононуклеарных лейкоцитов с АГ CFP10-ESAT6 и DAPT (10 мкМ/л). Угнетение сигнального пути Notch приводило к повышению индекса соотношения Th1/Th2-клеток относительно интактной и стимулированной CFP10-ESAT6 культур у больных ТЛ ($p_3 = 0,043$) и у здоровых доноров ($p_3 = 0,012$). Статистически значимых различий между группами больных с разной чувствительностью микобактерий не установлено (табл. 2).

Таблица 2

Соотношение популяций Th1- и Th2-лимфоцитов у больных диссеминированным туберкулезом легких, Me (Q_1-Q_3), %			
Индекс соотношения Th1/Th2	Здоровые доноры	Больные туберкулезом легких	
		Лекарственно-чувствительный	Лекарственно-устойчивый
Исходный	1,2 (1,13–1,25)	0,96 (0,94–0,97)	0,93 (0,88–0,95)
При стимуляции антигенами (CFP10-ESAT6)	1,16 (1,09–1,24)	0,96 (0,95–0,99)	0,95 (0,94–0,95)
При добавлении антигенов и DAPT (10 мкМ/л)	2,88 (2,68–2,82) $p_2 = 0,012$ $p_3 = 0,012$	1,27 (1,21–1,28) $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,043$ $p_3 = 0,043$	1,25 (1,24–1,25) $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,043$ $p_3 = 0,043$

ОБСУЖДЕНИЕ

Протективный контроль над инфекционным процессом, вызванным микобактериями туберкулеза, обеспечивается кооперативным взаимодействием множества иммунокомпетентных клеток, реализуемым через юстакринные и паракринные механизмы. Роль основной популяции, обеспечивающей развитие адаптивного иммунного ответа, принадлежит пулу антиген-специфических $CD4^+$ Т-лимфоцитов [15]. Их решающее значение в патогенезе туберкулеза легких определяется способностью повышать фагоцитарную активность макрофагов [16], индуцировать хемокин-опосредованную миграцию $CD8^+$ Т-клеток, их цитолитическую активность, секрецию ими цитокинов (IFN γ , TNF α) и гранзимов [15], а также подтверждается высоким риском развития заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов [15, 17, 18].

Установленное повышение доли Th1- и Th2-лимфоцитов в интактных культурах больных туберкулезом свидетельствует о комплексном вовлечении реакций клеточного и гуморального иммунитета в развитие протективного ответа против микобактерий. Диссеминированный характер течения туберкулезного воспаления указывает на несостоятельность реакций, направленных на сдерживание первичной микобактериальной инфекции. В качестве одного из факторов, способствующих прогрессирующему течению патологического процесса, может рассматриваться увеличение числа Treg и Th2-клеток.

Ключевую роль в развитии туберкулезной инфекции играют высокоспецифичные молекулы ESAT6 и CFP10, секретируемые только делящимися *Mycobacterium tuberculosis* [19]. Белок ESAT-6 обладает литической активностью, способствует проникновению возбудителя в клетку и дестабили-

зирует фагосомы, позволяя микобактериям выйти в цитозоль макрофага и избежать лизиса. Антиген CFP-10 образует комплекс с ESAT-6 и обеспечивает его доставку к месту действия [20]. Единый рекомбинантный белок CFP10-ESAT6 предназначен для оценки клеточно-опосредованного иммунного ответа на микобактерии туберкулеза. Зарегистрированное во всех исследуемых пробах повышение количества Th1- и Th2-лимфоцитов в ответ на стимуляцию культур антигенами микобактерий CFP10-ESAT6 является отражением физиологического ответа клеток и может свидетельствовать в пользу сохранения функции распознавания антигена и относительно эффективной межклеточной кооперации.

Вопрос функционального значения Th2-лимфоцитов в патогенезе прогрессирующего течения туберкулеза остается открытым. Классические реакции антитело-опосредованного иммунного ответа – опсонизация, активация комплемента, фагоцитоз, лизосомальная деградация – потенциально могут быть эффективными против микобактерий туберкулеза [3]. Ведущим цитокином гуморального иммунного ответа является IL-4, продуцируемый Th2-лимфоцитами. Молекулярные механизмы участия IL-4 в реакциях иммунитета связаны с подавлением TNF α -индуцированного апоптоза инфицированных клеток, снижением активности iNOS, усилением пролиферации антиген-специфических регуляторных T-лимфоцитов [5]. В работах отечественных [21, 22] и зарубежных [23–25] авторов установлено, что ключевым звеном иммунного дисбаланса при туберкулезной инфекции является поляризация иммунного ответа в направлении Treg- и Th2-зависимых реакций. Вероятно, ключевое значение имеет интенсивность напряжения функциональной активности Th2-лимфоцитов, а также титр и спектр образуемых плазматическими клетками антител. Ввиду этого установленное уменьшение доли Th2-лимфоцитов в культурах клеток больных ТЛ обеих групп при действии DAPT (10 мкМ/л) с параллельным увеличением числа Th1-клеток при ЛЧ ТЛ может рассматриваться в качестве возможного механизма, способствующего восстановлению эффективного динамического равновесия между основными популяциями, регулирующими интенсивность деструктивных процессов и обеспечивающими протективный контроль над распространением инфекции.

Зафиксированное и сохраняющееся в различных условиях эксперимента более низкое (чем при ЛЧ ТЛ) количество Th1-лимфоцитов у больных с ЛУ ТЛ свидетельствует в пользу значительных нарушений

молекулярных механизмов межклеточной кооперации, индуцируемых в том числе устойчивыми штаммами микобактерий. Установлено, что развитие ЛУ ТЛ ассоциировано со значительным увеличением числа и активности иммуносупрессорных регуляторных T-клеток (Treg), продукции ими IL-10, дефицитом NK-лимфоцитов, IFN γ и основного фактора, обеспечивающего пролиферацию антиген-специфических лимфоцитов – IL-2 [24, 26]. Поэтому возможной причиной исходно более низкого количества Th1-лимфоцитов у больных ЛЧ ТЛ в интактной культуре и сохранения этой динамики при стимуляции клеток антигенами могли быть индуцированные лекарственно-устойчивыми микобактериями механизмы нарушений реакций клеточного иммунитета, способствующие персистенции возбудителя и прогрессии заболевания.

Соотношение популяций Th1/Th2 в определенной степени отражает иммунный паттерн T-лимфоцитов [4, 27]. Применительно к микобактериальной инфекции преобладание Th1-клеток и клеточно-опосредованных реакций обеспечивает эффективную защиту от возбудителя, преобладание Th2-лимфоцитов и гуморальных реакций – развитие гиперергических реакций с иммуноопосредованным повреждением тканей. Установленное у больных ТЛ повышение коэффициента соотношения Th1/Th2-клеток под действием DAPT (10 мкМ/л) относительно интактной и стимулированной антигенами культур (а также их соответствие исходным показателям у здоровых доноров) может рассматриваться в качестве возможного механизма, регулирующего восстановление баланса популяций лимфоцитов через угнетение сигнального пути Notch, что может способствовать более эффективному развитию иммунного ответа и замедлению деструктивных процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сигнальный путь Notch оказывает модулирующее действие на дифференцировку ключевых популяций лимфоцитов, определяющих динамический баланс клеточно-опосредованных и гуморальных реакций. Угнетение молекулярного каскада Notch ингибитором γ -секретазы DAPT (в дозе 10 мкМ/л) в условиях *in vitro* способствует увеличению коэффициента соотношения Th1/Th2 у больных диссеминированным ЛЧ и ЛУ ТЛ. Положительное регулирующее действие на баланс Th1/Th2-клеток позволяет рассматривать сигнальный путь Notch в качестве перспективной потенциальной мишени патогенетической терапии туберкулеза. Оценка вклада молекулярного пути Notch в регуляцию дифференцировки других популяций T-лимфоцитов (Th17, Treg),

принимаящих участие в иммунопатогенезе туберкулеза, требует дальнейших исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Чурина Е.Г., Попова А.В., Уразова О.И., Кононова Т.Е., Воронова Г.А. Макрофаги и противотуберкулезный иммунитет (обзор литературы). *Вестник Томского государственного университета*. 2021;26:32–59. DOI: 10.17223/24135542/26/3.
2. Davis A.G., Rohlwick U.K., Proust A., Figaji A.A., Wilkinson R.J. The pathogenesis of tuberculous meningitis. *J. Leukoc. Biol.* 2019;105(2):267–280. DOI: 10.1002/JLB.MR0318-102R.
3. Achkar J.M., Chan J., Casadevall A. B cells and antibodies in the defense against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Immunol. Rev.* 2015;264(1):167–181. DOI: 10.1111/imr.12276.
4. Abebe F. Synergy between Th1 and Th2 responses during *Mycobacterium tuberculosis* infection: A review of current understanding. *Int. Rev. Immunol.* 2019;38(4):172–179. DOI: 10.1080/08830185.2019.1632842.
5. Rook G.A. Th2 cytokines in susceptibility to tuberculosis. *Curr. Mol. Med.* 2007;7(3):327–337. DOI: 10.2174/156652407780598557.
6. Pooran A., Davids M., Nel A., Shoko A., Blackburn J., Dheda K. IL-4 subverts mycobacterial containment in *Mycobacterium tuberculosis*-infected human macrophages. *Eur. Respir. J.* 2019;54(2):1802242. DOI: 10.1183/13993003.02242-2018.
7. Ashenafi S., Aderaye G., Bekele A., Zewdie M., Aseffa G., Hoang A.T. et al. Progression of clinical tuberculosis is associated with a Th2 immune response signature in combination with elevated levels of SOCS3. *Clin. Immunol.* 2014;151(2):84–99. DOI: 10.1016/j.clim.2014.01.010.
8. Burt P., Peine M., Peine C., Borek Z., Serve S., Floßdorf M. et al. Dissecting the dynamic transcriptional landscape of early T helper cell differentiation into Th1, Th2, and Th1/2 hybrid cells. *Front. Immunol.* 2022;13:928018. DOI: 10.3389/fimmu.2022.928018.
9. Joseph A.M., Monticelli L.A., Sonnenberg G.F. Metabolic regulation of innate and adaptive lymphocyte effector responses. *Immunol. Rev.* 2018;286(1):137–147. DOI: 10.1111/imr.12703.
10. Verma N.K., Fazil M.H., Ong S.T., Chhalasani M.L., Low J.H., Kottaiswamy A. et al. LFA-1/ICAM-1 ligation in human T cells promotes Th1 polarization through a GSK3 β signaling-dependent notch pathway. *J. Immunol.* 2016;197(1):108–118. DOI: 10.4049/jimmunol.1501264.
11. Narayana Y., Balaji K.N. NOTCH1 up-regulation and signaling involved in *Mycobacterium bovis* BCG-induced SOCS3 expression in macrophages. *J. Biol. Chem.* 2008;283(18):12501–12511. DOI: 10.1074/jbc.M709960200.
12. Li Q.F., He X.Y., Xin T. Role of the Notch signaling pathway in children with tuberculosis. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2019;21(10):1012–1015. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.10.011.
13. Wen J., Liu D., Zhao L. Small molecules targeting γ -secretase and their potential biological applications. *Eur. J. Med. Chem.* 2022;232:114169. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114169.
14. Dong Z., Huo J., Liang A., Chen J., Chen G., Liu D. Gamma-secretase inhibitor (DAPT), a potential therapeutic target drug, caused neurotoxicity in planarian regeneration by inhibiting Notch signaling pathway. *Sci. Total Environ.* 2021;781:146735. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146735.
15. Lu Y.J., Barreira-Silva P., Boyce S., Powers J., Cavallo K., Behar S.M. CD4 T cell help prevents CD8 T cell exhaustion and promotes control of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Cell Rep.* 2021;36(11):109696. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109696.
16. Narinyan W., Poladian N., Orujyan D., Gargaloyan A., Venketaraman V. Immunologic role of innate lymphoid cells against *Mycobacterial tuberculosis* infection. *Biomedicines.* 2022;10(11):2828. DOI: 10.3390/biomedicines10112828.
17. Amelio P., Portevin D., Hella J., Reither K., Kamwela L., Lweno O. et al. HIV infection functionally impairs *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4 and CD8 T-cell responses. *J. Virol.* 2019;93(5):e01728–18. DOI: 10.1128/JVI.01728-18.
18. Letang E., Ellis J., Naidoo K., Casas E.C., Sánchez P., Hassan-Moosa R. et al. Tuberculosis-HIV co-infection: progress and challenges after two decades of global antiretroviral treatment roll-out. *Arch. Bronconeumol.* 2020;56(7):446–454. DOI: 10.1016/j.arbr.2019.11.013.
19. Кудлай Д.А. Гибридные белки CFP10 и ESAT6. Путь от разработки молекулы до скрининга населения на туберкулезную инфекцию. *Иммунология.* 2021;42(2):166–174. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-166-174.
20. Кудлай Д.А., Докторова Н.П. Антигены ESAT-6 и CFP-10 как субстрат биотехнологической молекулы. Возможности применения в медицине. *Инфекция и иммунитет.* 2022;12(3):439–449. DOI: 10.15789/2220-7619-EAC-1763.
21. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е., Кононова Т.Е., Филинюк О.В. и др. Факторы дисрегуляции иммунного ответа (на различных этапах его реализации) при туберкулезе легких. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016;15(5):166–177. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-5-166-177.
22. Kononova T.E., Urazova O.I., Novitskii V.V., Churina E.G., Zakharova P.A. Expression of transcription factors RORC2 and FoxP3 mRNA in lymphocytes of patients with pulmonary tuberculosis. *Cell Tiss. Biol.* 2015;9:167–172. DOI: 10.1134/S1990519X15030062.
23. He X.Y., Xiao L., Chen H.B., Hao J., Li J., Wang Y.J. et al. T regulatory cells and Th1/Th2 cytokines in peripheral blood from tuberculosis patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010;29(6):643–650. DOI: 10.1007/s10096-010-0908-0.
24. Fan R., Xiang Y., Yang L., Liu Y., Chen P., Wang L. et al. Impaired NK cells' activity and increased numbers of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* patients. *Tuberculosis (Edinb.).* 2016;98:13–20. DOI: 10.1016/j.tube.2016.02.001.
25. Zhang J.A., Lu Y.B., Wang W.D., Liu G.B., Chen C., Shen L. et al. BTLA-expressing dendritic cells in patients with tuberculosis exhibit reduced production of IL-12/IFN- α and

- increased production of IL-4 and TGF- β , favoring Th2 and Foxp3⁺ Treg polarization. *Front. Immunol.* 2020;11:518. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00518.
26. Tan Q., Xie W.P., Min R., Dai G.Q., Xu C.C., Pan H.Q. et al. Characterization of Th1- and Th2-type immune response in human multidrug-resistant tuberculosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2012;31(6):1233–1242. DOI: 10.1007/s10096-011-1434-4.
27. Jia F., Zhao Q., Shi P., Liu H., Zhang F. Dupilumab. Advances in the off-label usage of IL4/IL13 antagonist in dermatoses. *Dermatol. Ther.* 2022;35(12):e15924. DOI: 10.1111/dth.15924.

Информация об авторах

Санина Алина Евгеньевна – аспирант, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, beresneva0307@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9261-635X>

Серебрякова Валентина Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры фармакологии СибГМУ, г. Томск, serebryakova-val@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7078-4988>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, urazova72@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Гаджиев Алибей Агалар оглы – студент, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, alibey050199@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1367-6942>

(✉) **Серебрякова Валентина Александровна**, serebryakova-val@mail.ru

Поступила в редакцию 11.04.2023;
одобрена после рецензирования 18.04.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Взаимосвязь делеций генов *CDKN2A* и *CDKN2B* с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Сарпова М.В., Трегубова Е.В., Дьяконов Д.А., Ванеева Е.В., Росин В.А., Самарина С.В., Назарова Е.Л.

Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства» (КНИИГиПК ФМБА) России
Россия, 610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

РЕЗЮМЕ

Цель. Определить взаимосвязь делеций генов *CDKN2A* и *CDKN2B* в локусе 9p21 с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой.

Материалы и методы. В исследование включены 105 пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой, получавших терапию первой линии по схеме R-CHOP. Делецию 9p21 выявляли с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* биопсийных образцов опухолевой ткани. Делеции в генах *CDKN2A* и *CDKN2B* устанавливали количественной полимеразной цепной реакцией в реальном времени. Общую и беспрогрессивную выживаемость рассчитывали по методу Каплана – Мейера с графическим построением кривых (log-rank тест). Риск наступления события вычисляли методом регрессионного анализа Кокса с расчетом отношения рисков (ОР) и 95%-го доверительного интервала (95%-й ДИ). Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Делеция хромосомного региона 9p21 обнаружена в биопсийных образцах 16,2% больных. Поломки в гене *CDKN2A* выявлены у 23,8% пациентов, утрата *CDKN2B* – у 28,6%. Беспрогрессивная выживаемость значимо ниже у обследованных с делецией 9p21, чем у лиц без данной аберрации: 29,4% против 62,5% соответственно ($p = 0,012$; ОР = 2,26; 95%-й ДИ = 1,17–4,38). Риск прогрессии заболевания при низком и низком промежуточном показателе международного прогностического индекса в 5,9 раза выше у пациентов с делецией гена *CDKN2B*, чем у больных без указанной аномалии.

Заключение. Делеция хромосомного региона 9p21 связана с низкой беспрогрессивной выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой. Утрата гена *CDKN2B* ассоциирована с высоким риском прогрессии заболевания у пациентов низкого и низкого промежуточного риска согласно международному прогностическому индексу.

Ключевые слова: делеция локуса 9p21, диффузная В-крупноклеточная лимфома, *CDKN2A/B*

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 при КНИИГиПК ФМБА России (протокол № 34 от 09.12.2022).

Для цитирования: Сарпова М.В., Трегубова Е.В., Дьяконов Д.А., Ванеева Е.В., Росин В.А., Самарина С.В., Назарова Е.Л. Взаимосвязь делеций генов *CDKN2A* и *CDKN2B* с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):100–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-100-106>.

Association of *CDKN2A/B* deletions with survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma

Sarpova M.V., Tregubova E.V., Diakonov D.A., Vaneeva E.V., Rosin V.A., Samarina S.V., Nazarova E.L.

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical Biological Agency (KRIHBT) 72, Krasnoarmeyskaya Str., Kirov, 610027, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To define the association of *CDKN2A/B* deletions in the 9p21 locus with survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma.

Materials and methods. The study included 105 patients with diffuse large B-cell lymphoma who received first-line therapy with R-CHOP. A deletion of 9p21 was detected by fluorescent in situ hybridization of tumor tissue biopsy samples. Deletions of *CDKN2A* and *CDKN2B* were determined by real-time quantitative polymerase chain reaction. The overall survival and the progression-free survival were calculated by the Kaplan – Meier method with plotting of survival curves (the log-rank test). The risk of event occurrence was determined by the Cox regression analysis with the calculation of the risk ratio (RR) and 95% confidence interval (CI). The differences between the variables were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. The deletion of the chromosomal region 9p21 was detected in the biopsy samples in 16.2% of patients. The *CDKN2A* deletions were detected in 23.8% of patients and *CDKN2B* loss – in 28.6% of patients. The progression-free survival was significantly lower in patients with the 9p21 deletion than in those without this aberration: 29.4% vs. 62.5%, respectively ($p = 0.012$; RR = 2.26; 95% CI = 1.17–4.38). The risk of disease progression at low and low-intermediate values of the International Prognostic Index was 5.9 times higher in patients with the *CDKN2B* deletion than in patients without this abnormality.

Conclusion. Deletion of the chromosomal region 9p21 is associated with low progression-free survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Loss of *CDKN2B* is associated with a high risk of disease progression in patients with low and low-intermediate risk according to the International Prognostic Index.

Keywords: deletion of the 9p21 locus, diffuse large B-cell lymphoma, *CDKN2A/B*

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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 KRIHBT (Protocol No. 34 of 09.12.2022).

For citation: Sarpova M.V., Tregubova E.V., Diakonov D.A., Vaneeva E.V., Rosin V.A., Samarina S.V., Nazarova E.L. Association of *CDKN2A/B* deletions with survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):100–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-100-106>.

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) представляет собой группу гетерогенных опухолей с различными клиническими проявлениями, морфологическими характеристиками, генетическими aberrациями, неодинаковым ответом на терапию и прогнозом [1]. Более половины пациентов с ДВККЛ хорошо отвечают на стандартную химиоте-

рапию по схеме R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон). Однако в 30–40% случаев развиваются рецидивы или рефрактерные формы заболевания, приводящие в большинстве случаев к летальному исходу [2]. В настоящее время простым и воспроизводимым инструментом оценки индивидуального риска раннего прогрессирования болезни считается Международный прогностический индекс (МПИ) и его модификации.

Однако, по мнению ряда авторов, его использование в практике не всегда точно позволяет оценить индивидуальный риск неудач терапии, поскольку МПИ в основном базируется на клинических характеристиках, поэтому необходим поиск новых маркеров, ассоциированных с неблагоприятным течением заболевания [3].

Одной из причин гетерогенности клинических проявлений ДВККЛ являются молекулярно-биологические особенности опухолевых клеток [4, 5]. Методами высокопроизводительного секвенирования получен обширный массив данных о генетических нарушениях, сопряженных с развитием заболевания и (или) ассоциированных с прогрессией неоплазии [6, 7].

При различных злокачественных новообразованиях одними из наиболее часто мутирующих являются гены ингибиторов циклин-зависимых киназ 2A/B (*CDKN2A* и *CDKN2B*), локализованные в хромосомном регионе 9p21. Они принадлежат к семейству супрессоров опухолевого роста. Гены *CDKN2A* и *CDKN2B* кодируют соответствующие протеины p16INK4a и p15INK4B, практически идентичные по своей структуре и биохимическим свойствам. Оба белка играют важную роль в контроле клеточного цикла, блокируя его при переходе клетки из G1- в S-фазу путем связывания циклин-зависимых киназ 4 и 6 (CDK4/6). По данным литературы, нарушения G1/S-контрольной точки приводят к неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток [8].

Делеции генов *CDKN2A/B* (9p21) встречаются в 20–30% случаев ДВККЛ и, по мнению ряда зарубежных авторов, связаны с неблагоприятным течением заболевания [9]. В отечественной литературе не найдено сведений о влиянии генетических aberrаций в хромосомном регионе 9p21 на прогноз болезни. В связи с вышеизложенным актуальным и целесообразным является исследование прогностической значимости aberrаций в локусе 9p21 у пациентов с ДВККЛ.

Цель исследования – определить взаимосвязь делеций генов *CDKN2A* и *CDKN2B* в локусе 9p21 с выживаемостью больных ДВККЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ретроспективное исследование включены 105 пациентов с впервые установленной ДВККЛ, находившихся на лечении в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в период с 2012 по 2019 г. в возрасте 59 [49–67] лет. Среди них 50,5% (53/105) мужчин, 49,5% (52/105) женщин. У 40% (42/105) обследованных определены 1- и 2-я стадии заболевания (по Ann-Arbor), у 60% (63/105) – 3-я и 4-я. Половина (52/105) пациентов имели высокий и

высокий промежуточный риск согласно МПИ. Все больные получали стандартную иммунохимиотерапию первой линии по схеме R-СНОР. Иммуногистохимический (ИГХ) подтип опухоли определен на основании алгоритма С.Р. Hans [10]: GCB-подтип установлен в 27,6% (29/105) случаев, non-GCB – в 72,4% (76/105). Полный ответ на терапию R-СНОР достигнут у 64,8% (68/105) обследованных, частичный – у 18,1% (19/105). Стабилизация процесса и рефрактерность к лечению констатированы у 17,1% (18/105) пациентов. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) составила 64,8%, пятилетняя беспрогрессивная выживаемость (БПВ) – 57,1%. Срок наблюдения за больными составил 48 [20–60] мес.

Делецию хромосомного региона 9p21 определяли с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) биопсийных образцов опухолевой ткани с использованием ДНК-зондов Kreatech *CDKN2A* (9p21) / 9q21 FISH probe по стандартной методике в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Делеции экзонов 1a, 2 гена *CDKN2A* и экзона 1 гена *CDKN2B* устанавливали количественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в реальном времени [11].

Статистическую обработку данных выполняли, используя программное обеспечение STADIA. Сравнение частоты встречаемости номинальных независимых переменных в группах обследованных, разделенных по изучаемым признакам, определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. Пятилетнюю ОВ и БПВ рассчитывали по методу Каплана – Мейера с графическим построением кривых. Различия между показателями выживаемости в группах больных определяли с применением теста log-rank. Риск прогрессии вычисляли с использованием регрессионного анализа Кокса с расчетом отношения рисков (ОР) и 95%-го доверительного интервала (95%-й ДИ), отбор переменных осуществляли методом обратного исключения (Вальд). Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Делеция хромосомного региона 9p21 обнаружена в клетках гистологических препаратов у 16,2% (17/105) обследованных. С помощью метода ПЦР подтверждены все результаты FISH-анализа, поломки выявлены у 31,4% (33/105) больных ДВККЛ. Полученные данные обусловлены, с одной стороны, более высокой чувствительностью ПЦР по сравнению с FISH-анализом при оценке аномалий числа копий на гистологических препаратах, с другой, – в некоторых случаях значительно меньшим участком удаленной области ДНК, чем покрывает коммерческий ДНК-зонд, что не приводит к ослаблению флу-

оресцентного сигнала. Делеции экзонов 1а и (или) 2 гена *CDKN2A* установлены в биопсийных образцах 23,8% (25/105) пациентов, утрата экзона 1 *CDKN2B* обнаружена в 28,6% (30/105) случаев. Всех пациентов разделили на группы в зависимости от наличия или отсутствия делеций хромосомного региона 9p21 генов *CDKN2A*, *CDKN2B*.

Статистически значимых ассоциаций между поломками в регионе 9p21 с клинико-лабораторными характеристиками пациентов (возрастом, стадией заболевания, ИГХ-подтипом, группой риска согласно МПИ) не выявлено (данные не показаны).

Взаимосвязи между поломками *CDKN2A/B* (9p21) и ОБ больных не установлено (данные не показаны). Пятилетняя БПВ пациентов с del9p21 значимо ниже по сравнению с таковым показателем у лиц без данной аберрации: 29,4% (*Me* = 19 мес) против 62,5% (*Me* не достигнута) соответственно ($p = 0,012$, рис. 1, а). Риск прогрессии заболевания у обследованных с утратой хромосомного региона 9p21 в опухолевых клетках в 2,26 раза выше, чем у лиц без генетической поломки (ОР = 2,26; 95%-й ДИ = 1,17–4,38). Ассоциаций между наличием или отсутствием делеций *CDKN2A* и БПВ не выявлено (данные не показаны).

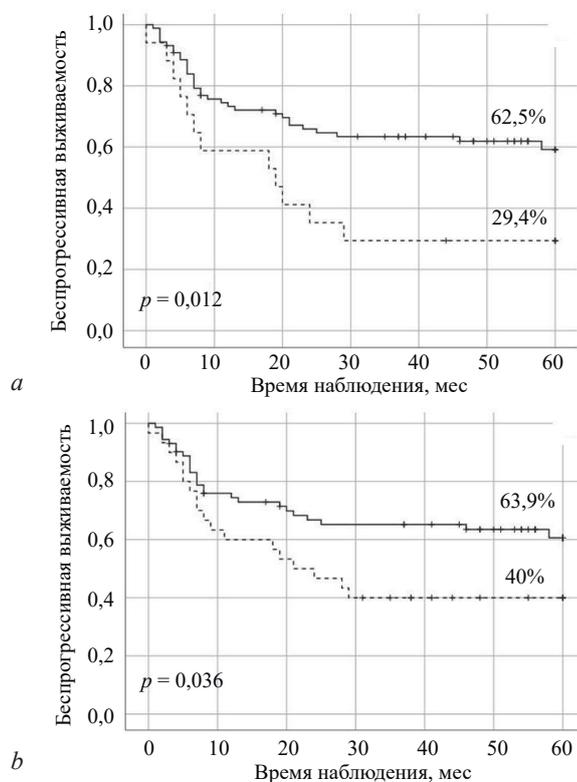


Рис. 1. Беспрогрессивная выживаемость пациентов: а – с делецией хромосомного региона 9p21 ($n = 17$, пунктир) и без аберрации ($n = 88$, сплошная линия); б – с делецией *CDKN2B* ($n = 30$, пунктир) и без аберраций ($n = 75$, сплошная линия)

Пятилетняя БПВ больных с делецией *CDKN2B* ниже аналогичного показателя обследованных без данной аномалии: 40% (*Me* = 21 мес) против 63,9% (*Me* не достигнута) соответственно ($p = 0,036$; см. рис. 1, б). Риск прогрессии заболевания у лиц с del*CDKN2B* в 1,9 раза выше, чем у пациентов без потери гена (ОР = 1,87; 95% ДИ = 1,03–3,42).

Согласно результатам однофакторного регрессионного анализа Кокса, предикторами низкой БПВ у пациентов с ДВККЛ являлись МПИ > 2 ($p < 0,001$; ОР = 6,22; 95%-й ДИ = 3,05–12,68), ИГХ non-GCB-подтип ($p = 0,058$; ОР = 2,10; 95%-й ДИ = 0,98–4,51), делеция хромосомного региона 9p21 ($p = 0,016$; ОР = 2,26; 95%-й ДИ = 1,17–4,38) или делеция *CDKN2B* ($p = 0,041$; ОР = 1,87; 95%-й ДИ = 1,03–3,42).

В многофакторную модель пропорциональных рисков Кокса (табл. 1) включены показатели, прошедшие селективный отбор по уровню значимости (МПИ > 2, ИГХ non-GCB-подтип, del9p21). Утрата хромосомного региона 9p21 определена в качестве независимого критерия прогноза низкой БПВ наряду с МПИ > 2. Риск прогрессии заболевания в 1,95 раза выше у пациентов с наличием делеции 9p21, чем у лиц без поломок в исследуемом локусе ($p = 0,031$; ОР = 1,95; 95%-й ДИ = 1,07–3,56).

Таблица 1

Многофакторный анализ Кокса предикторов беспрогрессивной выживаемости пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой, $n = 105$			
Параметр	ОР	95%-й ДИ	p
МПИ > 2	5,82	2,85–11,91	<0,001
del 9p21	1,95	1,07–3,56	0,031

Исследована связь между наличием генетических аберраций 9p21 и показателями выживаемости обследованных с низким или низким промежуточным риском согласно МПИ. У пациентов с делециями генов *CDKN2A* или *CDKN2B* БПВ ниже, чем у лиц с неповрежденным локусом: 66,7% против 86,1% ($p = 0,109$; *Me* не достигнута; рис. 2, а) и 60% против 88,9% соответственно ($p = 0,009$; *Me* не достигнута; рис. 2, б).

В отношении БПВ в однофакторном анализе Кокса статистическую значимость показала только утрата *CDKN2B* ($p = 0,018$; ОР = 4,67; 95%-й ДИ = 1,30–16,81). При оценке влияния нескольких предикторов на прогрессию заболевания, таких как возраст ≥ 60 лет ($p = 0,140$; ОР = 2,6; 95%-й ДИ = 0,73–9,21), del*CDKN2A* ($p = 0,124$; ОР = 2,65; 95%-й ДИ = 0,76–9,22), del*CDKN2B* ($p = 0,018$; ОР = 4,67; 95%-й ДИ = 1,30–16,81) установлено (табл. 2), что пациенты с del*CDKN2B* имели риск прогрессии заболевания в 5,9 раза выше, чем обследованные без утраты гена ($p = 0,010$; ОР = 5,9; 95%-й ДИ = 1,54–22,61).

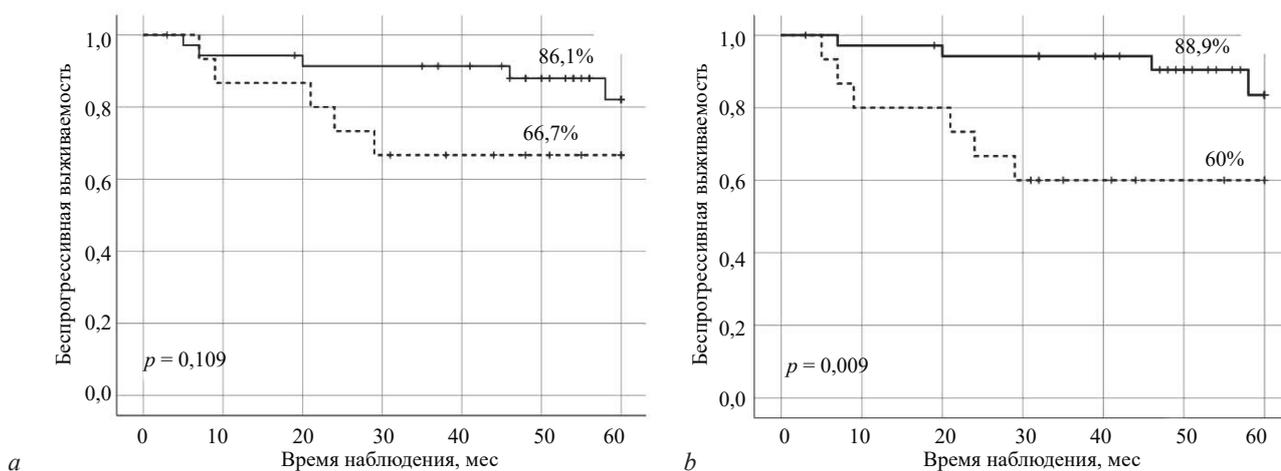


Рис. 2. Беспрогрессивная выживаемость у больных с низким или низким промежуточным риском при наличии делеции: *a* – *CDKN2A* (*n* = 15, пунктир), *b* – *CDKN2B* (*n* = 15, пунктир) и без абберации (*n* = 38, сплошная линия)

Таблица 2

Многофакторный анализ Кокса предикторов беспрогрессивной выживаемости пациентов низкого и низкого промежуточного риска, <i>n</i> = 53			
Параметр	ОР	95% ДИ	<i>p</i>
del <i>CDKN2B</i>	5,90	1,54–22,61	0,010
Возраст ≥ 60 лет	3,25	0,87–12,08	0,079

ОБСУЖДЕНИЕ

ДВККЛ представляет собой гетерогенное лимфоидное новообразование с различными профилями экспрессии генов и генетическими поломками, которые обуславливают разнообразие клинического течения и ответа на терапию. Абберации генов *CDKN2A* и *CDKN2B* могут нарушать различные биологические программы, в частности реакцию на повреждение ДНК (через путь p14-ARF/p53) и регулирование клеточного цикла (через путь подавления опухоли RB/p16). При нарушении последнего неопластические клетки накапливают дополнительные мутации, способствуя клональной эволюции опухоли, нестабильности генома и, как следствие, устойчивости к лекарственным препаратам и прогрессированию заболевания [8]. Так, В. Шару и соавт. определили подмножество вариантов ДВККЛ с биллельной инактивацией TP53 и утратой *CDKN2A*, характеризующихся нестабильностью генома и низкими показателями выживаемости вне зависимости от профиля генной экспрессии [7].

Согласно полученным данным, делеция хромосомного региона 9p21, установленная методом FISH, обнаружена у 16,2% пациентов. Результаты молекулярно-цитогенетических исследований подтверждены с помощью ПЦР. Утрата *CDKN2A* выявлена у 23,8% пациентов, потеря *CDKN2B* – в 28,6%. Полу-

ченные данные в целом соответствуют сведениям, упомянутым в литературе [9]. Большая частота генетических нарушений, определенных методом ПЦР, вероятно, обусловлена высокой чувствительностью применяемого анализа в отличие от FISH-анализа. Несмотря на то, что FISH не позволяет выявить делеции регионов меньшего размера (микроделеции) и небольшие субклоны, метод считается специфичным и показательным. Одновременное использование технологий является взаимодополняющим и минимизирует ошибки.

В нескольких работах показана ассоциация del9p21 с прогностически неблагоприятным ABC-вариантом ДВККЛ [12, 13]. В рамках нашего исследования аналогичной закономерности не установлено. Возможно, различия обусловлены способами определения подтипа: анализом на основании профиля экспрессии генов и иммуногистохимическими методами.

Установлено, что делеция хромосомного региона 9p21, наряду с МПИ > 2, является независимым критерием прогноза низкой БПВ больных ДВККЛ. Риск прогрессии заболевания в 2 раза выше у пациентов с наличием делеции 9p21, чем у лиц без поломок в исследуемом локусе. Определено, что БПВ пациентов с низким или низким промежуточным риском при делеции *CDKN2B* в биопсийном образце значительно ниже, чем у лиц без генетических поломок. Риск прогрессии более чем в 5 раз выше у обследованных с МПИ ≤ 2 при наличии делеции *CDKN2B* по сравнению с аналогичным показателем у больных без утраты гена. Результаты частично согласуются с данными F. Jardin и соавт., установивших, что делеции *CDKN2A* и (или) *CDKN2B* ассоциированы с более низкой общей и бессобытийной выживаемостью пациентов по сравнению с показателями обследован-

ных с нормальным статусом 9p21 [9]. В то же время различий в ОБ пациентов в зависимости от наличия или отсутствия делеций хромосомного региона 9p21 и (или) *CDKN2A/B* нами не выявлено.

Ассоциаций между наличием *delCDKN2A* и показателями выживаемости пациентов с ДВККЛ не найдено. Результаты схожи со сведениями С.Р. Volen и соавт. [12], К. Karube и соавт. [13]. Однако исследователи показали, что комплексные изменения биологического пути TP53/*CDKN2A* ассоциированы с низкими показателями выживаемости (ОБ и БПВ) независимо от величины МПИ и молекулярного подтипа заболевания [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Делеция хромосомного региона 9p21 связана с низкой беспрогрессивной выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой. Утрата гена *CDKN2B* ассоциирована с высоким риском прогрессии заболевания у пациентов низкого и низкого промежуточного риска согласно Международному прогностическому индексу. Аберрации в хромосомном регионе 9p21 (*delCDKN2A/B*) определяются как с применением ПЦР, так и методом FISH. Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнительных молекулярно-генетических критериев оценки неблагоприятного течения диффузной В-крупноклеточной лимфомы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I., Attygalle A.D., Barreto de Oliveira Araujo I., Berti E. et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720–1748. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2.
- Coiffier B., Sarkozy C. Diffuse large B-cell lymphoma: R-CHOP failure – what to do? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2016;2016(1):366–378. DOI: 10.1182/asheducation-2016.1.366.
- Самарина С.В., Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Зотина Е.Н., Парамонов И.В., Грицаев С.В. Клинико-гематологические показатели прогноза ответа на терапию первой линии у пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой. *Клиническая онкогематология*. 2019;12(1):68–72. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-68-72.
- Alizadeh A., Eisen M., Davis R., Ma C., Lossos I.S., Rosenwald A. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769):503–511. DOI: 10.1038/35000501.
- Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Лучинин А.С., Кочетов Н.Л., Самарина С.В. Значение экспрессии pAKT1 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(3):6–13. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-3-13-20.
- Wright G.W., Huang D.W., Phelan J.D., Coulibaly Z.A., Roullet S., Young R.M. et al. A probabilistic classification tool for genetic subtypes of diffuse large B-cell lymphoma with therapeutic implications. *Cancer Cell*. 2020;37(4):551–568.e14. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.015.
- Chapuy B., Stewart C., Dunford A.J., Kim J., Kamburov A., Redd R.A. et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat. Med.* 2018;24(5):679–690. DOI: 10.1038/s41591-018-0016-8.
- Li J., Poi M.J., Tsai M.D. Regulatory mechanisms of tumor suppressor P16(INK4A) and their relevance to cancer. *Biochemistry*. 2011;50(25):5566–5582. DOI: 10.1021/bi200642e.
- Jardin F., Jais J.P., Molina T.J., Parmentier F., Picquenot J.M., Ruminy P. et al. Diffuse large B-cell lymphomas with CDKN2A deletion have a distinct gene expression signature and a poor prognosis under R-CHOP treatment: a GELA study. *Blood*. 2010;116(7):1092–1094. DOI: 10.1182/blood-2009-10-247122.
- Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C., Gascoyne R.D., Delabie J., Ott G. et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103(1):275–282. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1545.
- Laharanne E., Chevret Y., Idrissi Y., Gentil C., Longy M., Ferrer J. et al. CDKN2A-CDKN2B deletion defines an aggressive subset of cutaneous T-cell lymphoma. *Modern Pathology*. 2010;23(4):547–558. DOI: 10.1038/modpathol.2009.196.
- Bolen C.R., Klanova M., Trneny M., Sehn L.H., He J., Tong J. et al. Prognostic impact of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma and relationship to cell-of-origin: data from the phase III GOYA study. *Haematologica*. 2020;105(9):2298–2307. DOI: 10.3324/haematol.2019.227892.
- Karube K., Enjuanes A., Dlouhy I., Jares P., Martin-Garcia D., Nadeu F. et al. Integrating genomic alterations in diffuse large B-cell lymphoma identifies new relevant pathways and potential therapeutic targets. *Leukemia*. 2018;32(3):675–684. DOI: 10.1038/leu.2017.251.

Вклад авторов

Сарпова М.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Трегубова Е.В., Ванеева Е.В. – анализ и интерпретация данных. Дьяконов Д.А. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Росин В.А., Назарова Е.Л. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Самарина С.В. – сбор клинических данных по пациентам.

Сведения об авторах

Сарпова Мария Вадимовна – науч. сотрудник, лаборатория патоморфологии, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, marisarpova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5949-7865>

Трегубова Екатерина Владимировна – мл. науч. сотрудник, лаборатория клеточной и молекулярной иммунологии, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, tregubova.e@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1897-6936>

Дьяконов Дмитрий Андреевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, dyakonov@niigpk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8688-1344>

Ванеева Елена Викторовна – канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, vaneeva@niigpk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1045-2011>

Росин Виталий Анатольевич – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория патоморфологии, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, rosin@niigpk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2054-2870>

Самарина Светлана Валерьевна – канд. мед. наук, зав. клинико-диагностическим отделением гематологии и химиотерапии с дневным стационаром, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, samarina@niigpk.ru, 0000-0001-8639-719X

Назарова Елена Львовна – канд. мед. наук, зав. лабораторией клеточной и молекулярной иммунологии, КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров, nazarova.yelena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2010-8679>

(✉) **Сарпова Мария Вадимовна**, marisarpova@mail.ru

Поступила в редакцию 10.01.2023;
одобрена после рецензирования 21.02.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Анализ программ экстракорпорального оплодотворения при ановуляторном бесплодии у пациенток с ретенционными образованиями яичников

Тимофеева О.С., Петров И.А., Гайфулина Ж.Ф., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Самойлова Ю.Г., Петрова М.С., Юрьев С.Ю., Дмитриева М.Л., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Михеенко Г.А.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Существуют различные мнения о влиянии функциональных кист яичников на длительность стимуляции суперовуляции, дозу гонадотропинов, количество и качество полученных ооцитов и эмбрионов, частоту наступления беременности.

Цель исследования – провести анализ программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) при ановуляторном бесплодии у пациенток с ретенционными образованиями яичников.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование 71 женщины в возрасте 18–44 года. Основную группу (I) составили пациентки ($n = 38$) с ановуляторным бесплодием и функциональными кистами яичников (ФКЯ), диагностированными при ультразвуковом исследовании непосредственно перед вступлением в программу ЭКО. Пациенткам данной группы проводилась трансвагинальная пункция кисты под ультразвуковым контролем с последующим цитологическим исследованием. В группу сравнения (II) ($n = 33$) включались пациентки с ановуляторным бесплодием без ФКЯ, которым проведена программа ЭКО. В группу контроля (III) вошли условно здоровые пациентки ($n = 15$).

Алгоритм исследования включал анализ клинико-anamnestических характеристик пациенток, данных лабораторного и инструментального исследования, показателей стимулированного цикла, характеристику показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза, а также оценку эффективности программы ЭКО.

Заключение. Установлено, что при функциональных кистах яичника и бесплодии получено более низкое количество ооцитов при стимуляции, однако количество топовых эмбрионов, частота наступления беременности и живорождения не отличались.

Ключевые слова: функциональные кисты яичников, лечение функциональных кист, вспомогательные репродуктивные технологии, экстракорпоральное оплодотворение, стимуляция овуляции

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 пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 9455 от 27.04.2023).

Для цитирования: Тимофеева О.С., Петров И.А., Гайфулина Ж.Ф., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Самойлова Ю.Г., Петрова М.С., Юрьев С.Ю., Дмитриева М.Л., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Михеенко Г.А. Анализ программ экстракорпорального оплодотворения при ановуляторном бесплодии у пациенток

с ретенционными образованиями яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):107–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-107-113>.

Analysis of in vitro fertilization programs in patients with functional ovarian cysts and anovulatory infertility

Timofeeva O.S., Petrov I.A., Gaifulina J.F., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Samoilova Iu.G., Petrova M.S., Yuriev S.Yu., Dmitrieva M.L., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V., Miheenko G.A.

Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Background. There are different opinions about the effect of functional ovarian cysts on the duration of controlled ovarian hyperstimulation, the dose of gonadotropins, the number and quality of collected oocytes and produced embryos, and the frequency of pregnancy.

Aim. To analyze in vitro fertilization (IVF) programs in women with anovulatory infertility and ovarian retention.

Materials and methods. A prospective study included 71 women aged 18–44 years. The main group (I) included patients ($n = 38$) with anovulatory infertility and functional ovarian cysts (FOC) diagnosed by ultrasound before enrollment in the IVF program. Patients of this group underwent ultrasound-guided transvaginal puncture of ovarian cyst followed by cytology. The comparison group (II) ($n = 33$) encompassed patients with anovulatory infertility without FOC, who went through the IVF program. The control group (III) included apparently healthy individuals ($n = 15$).

The study algorithm included collection of clinical and anamnestic data of the patients, data of laboratory and instrumental studies, parameters of a stimulated IVF cycle, characteristics of oogenesis and early embryogenesis, and assessment of IVF program effectiveness.

Conclusion. It was established that in FOC and anovulatory infertility, the number of collected oocytes was smaller; however, the number of the best quality embryos and the frequency of pregnancy did not differ.

Keywords: functional ovarian cysts, assisted reproductive technology, in vitro fertilization, ovulation induction

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 9455 of 27.04.2023).

For citation: Timofeeva O.S., Petrov I.A., Gaifulina J.F., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Samoilova Iu.G., Petrova M.S., Yuriev S.Yu., Dmitrieva M.L., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V., Miheenko G.A. Analysis of in vitro fertilization programs in patients with functional ovarian cysts and anovulatory infertility. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):107–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-107-113>.

ВВЕДЕНИЕ

Вопросы диагностики и лечения бесплодия – одна из главных клинических и социально значимых проблем современной медицины, что обусловлено не только значительным распространением различных

факторов бесплодия, но и тенденцией к их увеличению [1]. Одним из эффективных и востребованных методов по преодолению бесплодия являются вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), в том числе экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) [2]. Согласно данным регистра Российской

ассоциации репродукции человека, в 2019 г. с помощью ЭКО в России появились на свет более 36 000 детей, а в 2020 г. – более 34 000 [3]. Показанием к ЭКО является неэффективность лечения бесплодия другими методами в течение 12 мес женщинам до 35 лет и в течение 6 мес женщинам старше 35 лет [4].

По данным литературы, у каждой четвертой пациентки с бесплодием выявляются объемные образования яичников различного генеза и 80% из них представлены ретенционными образованиями. В большинстве случаев ретенционными образованиями являются функциональные кисты яичников (ФКЯ): фолликулярные кисты и кисты желтого тела [5–9]. За последние 10 лет распространенность ФКЯ увеличилась с 6–12 до 25% [9–13]. В 60% случаев они возникают в репродуктивном возрасте [14, 15]. Бесплодие у пациенток с ретенционными образованиями яичников достигает 41 % [16, 17].

Первым этапом при планировании ВРТ считается ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза (ОМТ), целью которого являются оценка состояния эндометрия, выявление аномалий полости матки, подсчет количества антральных фолликулов и определение патологии яичников, в частности кист яичников [4]. Тактика ведения пациенток с ФКЯ в программах ЭКО остается спорной. В. Kumbak и соавт. (2009), Е.Б. Рудакова и соавт. (2014) считают, что ФКЯ не оказывают влияния на результативность программ ЭКО [18, 19]. Н.С. Qublan и соавт. (2006), R.D. Firouzabadi и соавт. (2010), R. Levi и соавт. (2003) предполагают, что ФКЯ, выявленные перед началом стимуляции в программах ЭКО, имеют негативный эффект на ее исход: требуют более высоких доз гонадотропинов, ассоциированы с более низким ответом яичников и снижают частоту наступления беременности [20–22].

Существуют разные подходы к ведению пациенток с ФКЯ в программах ВРТ: хирургический (трансвагинальная пункция кисты с последующим цитологическим исследованием) и консервативный (введение агонистов и антагонистов гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) в течение 3–7 сут) методы, а также выжидательная тактика [18–27]. Несмотря на значительное количество работ, в настоящее время недостаточно изучено влияние ФКЯ на течение и исход протоколов ЭКО, а именно на особенности контролируемой индукции супероолюляции, количество и качество ооцитов, а также показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза

Цель исследования – провести анализ программ экстракорпорального оплодотворения при ановуляторном бесплодии у пациенток с ретенционными образованиями яичников, выявленными в программе ЭКО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное исследование 71 женщины репродуктивного возраста, обратившейся в центр вспомогательных репродуктивных технологий ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Основную группу (I) составили пациентки ($n = 38$) с ановуляторным бесплодием и функциональными кистами яичников, диагностированными при ультразвуковом исследовании непосредственно перед вступлением в программу ЭКО. Пациентам данной группы проводилась трансвагинальная пункция кисты под ультразвуковым контролем с последующим цитологическим исследованием. В группу сравнения (II) ($n = 33$) включались пациентки с ановуляторным бесплодием без ФКЯ, которым проведена программа ЭКО. В группу контроля (III) вошли условно здоровые пациентки ($n = 15$).

Критерии включения в исследование:

- 1) возраст от 18 до 44 лет;
- 2) уровень антимюллерова гормона (АМГ) в крови женщины 1,2–3,5 нг/мл;
- 3) информированное согласие на участие в данном исследовании;
- 4) индекс массы тела (ИМТ) 18,5–30,0.

Критерии исключения:

- 1) возраст менее 18 и более 45 лет;
- 2) гиперпролактинемия;
- 3) умеренные и тяжелые формы генитального эндометриоза (ASRM \geq III, 1996);
- 4) гипотиреоз;
- 5) миома матки, требующая оперативного лечения;
- 6) истинные опухоли яичников;
- 6) противопоказания к ЭКО согласно приказу Минздрава России Российской Федерации от 31.07.2020 № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» (далее – Приказ № 803н);
- 7) отказ женщины от участия в исследовании.

В основную группу включались пациентки с односторонним ретенционным образованием, персистирующим не более 3 мес, по данным ультразвукового исследования, диаметром 25–60 мм. При обнаружении ФКЯ проводилось исследование СА-125, HE-4. При повышении значений концентрации этих показателей выше референсных значений пациентка исключалась из исследования.

Алгоритм исследования включал анализ клинико-анамнестических характеристик пациенток, данных лабораторного и инструментального исследования, показателей стимулированного цикла, характери-

стику показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза, а также оценку эффективности программы ЭКО. Все пациентки были обследованы в соответствии с Приказом № 803н. Стимуляция овуляции всем пациенткам проводилась по протоколу с антагонистами ГнРГ. Для статистической обработки данных использовалась программа SPSS 23. С целью определения однородности дисперсий использовали тест Левена. Для оценки нормального распределения признаков использовали критерии Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса, Шапиро – Уилка, а также визуальную оценку гистограмм. При сравнении количественных данных двух независимых групп использовали критерий Манна – Уитни, при сравнении более двух независимых групп – критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений критериями Дана (Dunn O.J., 1964) и Коновера – Инмана (Conover W.J., Iman R.L., 1979). При сравнении качественных признаков использовали таблицы сопряженности с критерием согласия χ^2 Пирсона. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха ($Me (Q_{25}-Q_{75})$), средней величины и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст всех обследуемых ($n = 71$) составил 34,0 (30,0–39,0) года. Статистический анализ показал возрастную однородность пациенток основной группы и группы сравнения ($p = 0,746$). В подавляющем большинстве случаев менархе у женщин всех групп наступило в возрасте от 12 до 15 лет. Средний возраст менархе всех исследуемых ($n = 71$)

составил 13,5 (12,0–14,0) лет. Средняя продолжительность менструального цикла всех исследуемых ($n = 71$) составила 30,0 (27,0–37,0) сут. Нарушения менструального цикла в анамнезе установлены у 51 (71,8%) пациентки. Олигоменорея имела место у 12 (16,9%) пациенток, аномальные маточные кровотечения (АМК) при отсутствии хронической патологии эндометрия – у 20 (28,1%) женщин. Дисменорею отмечала 21 (29,5%) пациентка. Статистический анализ групп I и II показал их однородность по всем изучаемым параметрам менструального цикла.

Средняя продолжительность бесплодия составила $6,0 \pm 0,3$ лет ($p = 0,929$). Комбинированное бесплодие (сочетание и мужского, и женского фактора) имело место у 19 (26,7 %) пациенток. Сочетанное женское бесплодие встречалось у 25 (35,2%) пациенток. Трубный фактор имел место у 18 (25,4%) пациенток, эндометриоз – у 12 пациенток (12,1%). Статистический анализ однородности I и II групп не выявил различий.

Соматическое здоровье всех пациенток было оценено как удовлетворительное. Экстрагенитальная патология была выявлена у 50,5% женщин и находилась в фазе стойкой ремиссии или компенсированном состоянии на момент вступления в программу ВРТ. Наиболее часто отмечалась патология щитовидной железы в компенсированном состоянии у 35,2% пациентов и желудочно-кишечного тракта в стадии ремиссии у 16,9% пациентов всех групп.

Для определения овариального резерва использовались оценка гормонального профиля (показатели АМГ, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ)) и определение количества антральных фолликулов (КАФ) по данным УЗИ ОМТ (табл. 1).

Таблица 1

Анализ показателей овариального резерва, $Me (Q_{25}-Q_{75})$				
Показатель	Группа I, $n = 38$	Группа II, $n = 33$	Группа III (контроль), $n = 15$	p (критерий Краскела – Уоллиса)
ФСГ, мЕд/мл	5,60 (5,1–8,4)	5,3 (3,8–8,5)	4,6 (3,1–5,3)	0,608
ЛГ, мЕд/мл	6,9 (3,2–7,4)	6,5 (3,0–6,9)	3,9 (2,8–4,8)	0,043*
АМГ, нг/мл	2,51 (1,4–3,4)	2,4 (1,8–3,1)	3,3 (3,0–3,8)	0,841
Эстрадиол, пг/мл	42,9 (30,0–64,0)	42,0 (30,3–69,0)	41,6 (30,5–65,0)	0,906
КАФ	10,0 (5,0–13,0)	11,0 (8,5–13,0)	13,6 (11,0–14,0)	0,449

Примечание. При попарном сравнении групп I и II тестом Манна – Уитни не выявлено достоверно значимых различий ($p = 0,442$), при сравнении групп I–III и II–III выявлены значимые различия, $p = 0,032$ и $p = 0,028$ соответственно.

Анализ показателей овариального резерва показывает однородность I и II групп. Однородность групп достигнута соблюдением критериев включения, а именно ограничением уровня АМГ от 1,2–3,5 нг/мл и ИМТ для участия в исследовании. Тем самым все исследуемые группы пациентов имели

ожидаемый нормальный ответ на стимуляцию овуляции, что позволяет получить истинные данные о влиянии ФКЯ на эффективность овариальной стимуляции. Стимуляция овуляции у всех пациентов, принимавших участие в исследовании, проводилась по протоколу с использованием антагонистов ГнРГ

Таблица 3

Характеристика оогенеза и раннего эмбриогенеза			
Показатель	Группа I, n = 38	Группа II, n = 33	p
Количество пунктированных фолликулов, $M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	7,9 ± 0,5 8,0 (5,0–11,0)	10,2 ± 0,5 11,0 (7,0–13,0)	0,013
Количество ооцитов, $M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	7,24 ± 0,5 7,0 (5,0–11,0)	9,45 ± 0,6 9,0 (6,0–13,0)	0,022
Доля зрелых ооцитов (МП), n (%)	243/312 (77,9%)	198/283 (69,9%)	0,007
Количество оплодотворенных, $M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	4,9 ± 0,5 4,0 (3,0–6,0)	6,58 ± 0,6 6,0 (3,5–8,5)	0,075
Количество топовых эмбрионов на 5-е сут, $M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	2,34 ± 0,3 2,0 (1,0–3,25)	3,3 ± 0,5 2,0 (1,5–3,5)	0,097

Таблица 4

Клиническая эффективность программ ЭКО			
Показатель	Группа I, n = 38	Группа II, n = 33	p
Частота наступления беременности на начатый цикл, n (%)	11 (28,9%)	10 (30,3%)	0,627
Частота наступления беременности на перенос эмбрионов, n (%)	16 (42,1%)	15 (45,5%)	0,886
Прерывание беременности, n (%)	2 (5,3%)	3 (9,1%)	0,579
Внематочная беременность, n (%)	1 (1,5%)	0 (0%)	1,000
Take baby home, n (95% CI)	12 (31,6%)	12 (36,4%)	1,000

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ФКЯ оказывают отрицательное влияние на эффективность овариальной стимуляции в виде снижения количества фолликулов ($p = 0,006$) и более низком количестве полученных ооцитов ($p = 0,002$) при ановуляторном бесплодии. Возможно, данный эффект опосредован как механическим воздействием ретенционного образования на яичник, препятствующим росту фолликулов, так и изменением кровоснабжения в ущерб развитию фолликулов, приводящим к снижению ответу на стимуляцию и меньшему количеству получаемых ооцитов в группе ановуляторного бесплодия с ФКЯ в сравнении с группой без ФКЯ.

Предположительно, ретенционное образование может оказывать активное паракринное или эндокринное влияние, являющееся следствием высвобождения эстрадиола. Кисты, связанные с повышением уровня эстрадиола, могут вызывать преждевременное повышение уровня ЛГ и прогестерона, что приводит к снижению качества ооци-

(антаГнРГ). Добавление антаГнРГ проводилось на 6-е сут стимуляции гонадотропинами. При исследовании показателей индуцированного цикла в основной группе и группе сравнения не выявлено статистически значимых различий ни в стартовой дозе, ни в длительности стимуляции (табл. 2).

Таблица 2

Данные стимулированного цикла			
Показатель	Группа I, n = 38	Группа II, n = 33	p
Стартовая доза гонадотропинов, $ME, M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	194,7 ± 10,4 150 (150–225)	200 ± 7,3 225 (150–225)	0,932
Суммарная доза гонадотропинов, $ME, M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	2373,7 ± 220,9 1950 (1350–2850)	1981,8 ± 82,9 2175,0 (1750,0–2250,0)	0,875
Продолжительность стимуляции, сут, $M \pm SD$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	10,8 ± 0,9 11,0 (9,0–14,0)	10,5 ± 0,3 (11,0; (9,0–11,0))	0,910
Триггер, n (%): – триггерелин – α -ХГ	34 (89,4%) 4 (10,5%)	30 (90,9%) 3 (9,1%)	1,000

Примечание. ХГ – хорионический гонадотропин.

Эффективность программы ЭКО выражается характером ответа на стимуляцию овуляции, количеством и качеством получаемых ооцитов и эмбрионов. На основании полученных данных проводился анализ показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза. Среднее количество пунктированных фолликулов в I и II группах ($n = 38$ и $n = 33$ соответственно) составило 10,2 (от 7 до 13). Выявлено статистически значимое большее количество пунктированных фолликулов в группе сравнения, т. е. при ановуляторном бесплодии и отсутствии ФКЯ, чем у пациентов основной группы ($p = 0,006$). Также установлено значимое увеличение количества полученных ооцитов в группе пациентов без ФКЯ ($p = 0,002$). Однако доля зрелых ооцитов оказалась выше в группе с ФКЯ ($p = 0,014$), что привело к равному количеству эмбрионов топового качества в обеих группах ($p = 0,097$) (табл. 3).

Проведен анализ результативности ЭКО (табл. 4). Частота наступления беременности на начатый цикл и эмбриоперенос составили 21/71 (29,5%) и 31/71 (43,7%) в группе I и II соответственно. Показатель Take baby home, т. е. рождение ребенка, оказался равным 24/71 (33,9 %). При анализе таблиц сопряженности, χ^2 Пирсона отмечено, что частота имплантации, беременности на начатый цикл (перенос), живорождения одинаковы вне зависимости от наличия (отсутствия) ФКЯ перед вступлением в протокол ЭКО.

тов и оказывает негативное влияние на эндометрий. Данный механизм негативного влияния ФКЯ на количество ооцитов при стимуляции овуляции описан рядом авторов [20, 23, 24]. При этом доля зрелых ооцитов (МП) оказалась выше в группе пациентов с ФКЯ в сравнении с группой ановуляторного бесплодия без ретенционных образований, что доказывает отсутствие выраженного негативного влияния фолликулярных кист и кист желтых тел на качество и компетенцию ооцитов.

Количество топовых эмбрионов (бластоцисты категории А и В согласно классификации для оценки эмбрионов человека на стадии бластоцисты, предложенной D.K. Gardner, W.B. Schoolcraft (1999), основанной на анализе клеток трофэктодермы, внутренней клеточной массы и размера полости бластоцисты) также не различалось в обеих группах ($p = 0,097$), что подтверждает данные литературы об отсутствии возможного отрицательного воздействия ФКЯ на эффективность программы ЭКО [18, 19]. Эффективность программ, оцениваемая в количестве беременностей на начатый цикл и в количестве беременностей на перенос, также была одинаковой в обеих сравниваемых группах ($p = 0,89$ и $p = 0,89$ соответственно). Таким образом, ФКЯ, обнаруженные перед вступлением в протокол, не оказывают выраженного негативного влияния на исход программ ВРТ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Источники WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. World Health Organization, 2021. URL: <https://www.who.int/publications/item/9789240030787>
2. Chambers G.M., Dyer S., Zegers-Hochschild F., de Mouzon J., Ishihara O., Banker M. et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014. *Hum. Reprod.* 2021;36(11):2921–2934. DOI: 10.1093/humrep/deab198.
3. Российская Ассоциация репродукции человека. Регистр ВРТ: отчет за 2020 год. URL: https://rahr.ru/registr_otchet.php (дата обращения: 06.03.2023).
4. Российское общество акушеров-гинекологов. Женское бесплодие: клинические рекомендации. 2021. URL: <https://mz.mosreg.ru/dokumenty/informaciya/klinicheskie-rekomendacii/02-08-2021-11-12-30-zhenskoe-besplodie>
5. Fiorentino G., Cimadomo D., Innocenti F., Soscia D., Vairarelli A., Ubaldi F.M. et al. Biomechanical forces and signals operating in the ovary during folliculogenesis and their dysregulation: implications for fertility. *Hum. Reprod. Update.* 2023;29(1):1–23. DOI: 10.1093/humupd/dmac031.al.
6. Дубровина С.О., Берлим Ю.Д., Гимбут В.С., Вовкочина М.А. Гормональная терапия при функциональных кистах яичников. *Акушерство и гинекология.* 2020;(4):210–213. DOI: 10.18565/aig.2020.4.210-213.
7. Шукуров Ф.И., Аюпова Ф.М. Роль адъювантной гормональной терапии в восстановлении репродуктивной функции у женщин после эндохирургического лечения фолликулярных кист яичников. *Гинекология.* 2021;23(1):68–72. DOI: 10.26442/20795696.2021.1.200441.
8. Jaroslava D. Cytology of ovarian cysts. *Cesk. Patol.* 2019;55(2):107–111.
9. Подзолкова Н.М., Осадчев В.Б., Бабков К.В., Сафонова Н.Е. Алгоритм дифференциальной диагностики новообразований яичников у пациенток репродуктивного периода: проспективное исследование. *Гинекология.* 2022;24(2):80–87. DOI: 10.26442/20795696.2022.2.201387.
10. Матейкович Е.А., Шевлюкова Т.П., Чернова А.Л. Доброкачественные опухоли и опухолеподобные поражения яичников: структура, методы диагностики, тактика оказания медицинской помощи. *Медицинская наука и образование Урала.* 2021;22(1):100–104. DOI: 10.36361/1814-8999-2021-22-1-100-104.
11. Меджидова К.К., Алиева Х.Г., Гасанова М.А., Алиева Д.Х., Идрисов М.М., Магомедов Р.Г. Лечение кист яичника. *Проблемы репродукции.* 2014;(5):35–38.
12. Матевосян А.А. Современные аспекты реализации программы ЭКО и ПЭ у женщин с доброкачественными опухолями яичников. *Вестник хирургии Армении им. Г.С. Тамазяна.* 2010;(2):38–42.
13. Mobeen S., Apostol R. Ovarian cyst. In: Stat. Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat. Pearls Publishing, 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560541>
14. Сорокина И.В., Марковский В.Д., Борзенкова И.В., Кулакова Е.А., Мирошниченко М.С., Плитень О.Н. и др. Кистозные образования яичников у женщин: клинические и морфологические особенности. *Морфология.* 2015;9(2):78–84. DOI: 10.26641/1997-9665.2015.2.78-84.
15. Гасымова Д.М., Рухляда Н.Н. Клинико-anamnestические особенности пациенток с осложнениями доброкачественных опухолей и опухолевидных образований яичников. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2017;17(4):72–77. DOI: 10.17116/rosakush201717472-77.
16. Шаповал О.С., Резниченко Г.И. Особенности реализации репродуктивной функции у женщин с доброкачественными опухолеподобными образованиями яичников. *Здоровье женщины.* 2015;(2):104–107.
17. Volchenok D.A., Tikhonovskaya O.A., Petrov I.A., Logvinov S.V., Mungalova A.D. The state of ovarian reserve in patients with functional ovarian cysts. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2019;(1):18–27. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2019;(1):18–27. DOI: 10.31549/2542-1174-2019-1-18-27.
18. Kumbak B., Kahraman S. Management of prestimulation ovarian cysts during assisted reproductive treatments: impact of aspiration on the outcome. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2009;279(6):875–880. DOI: 10.1007/s00404-008-0837-7.
19. Рудакова Е.Б., Стрижова Т.В., Трубникова О.Б., Замаховская Л.Ю. Кисты яичников в программах ЭКО и ПЭ в протоколах с АГ-РГ. *Репродуктивная медицина.* 2014;(34):11–13.
20. Qublan H.S., Amarin Z., Tahat Y.A., Smadi A.Z., Kilani M. Ovarian cyst formation following GnRH agonist adminis-

- tration in IVF cycles: incidence and impact. *Hum. Reprod.* 2006;21(3):640–644. DOI: 10.1093/humrep/dei371.
21. Firouzabadi R.D., Sekhavat L., Javedani M. The effect of ovarian cyst aspiration on IVF treatment with GnRH. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2010;281(3):545–549. DOI: 10.1007/s00404-009-1195-9.
 22. Levi R., Ozçakir H.T., Adakan S., Göker E.N., Tavmergen E. Effect of ovarian cysts detected on the beginning day of ovulation induction to the success rates in ART cycles. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2003;29(4):257–261. DOI: 10.1046/j.1341-8076.2003.00110.x.
 23. Pereira N., Amrane S., Hobeika E., Lekovich J.P., Chung P.H., Rosenwaks Z. Cyst aspiration or GnRH antagonist administration for ovarian cysts detected at the start of fresh *in vitro* fertilization cycles. *Gynecol. Endocrinol.* 2016;32(7):562–565. DOI: 10.3109/09513590.2016.1139565.
 24. McDonnell R., Marjoribanks J., Hart R.J. Ovarian cyst aspiration prior to *in vitro* fertilization treatment for subfertility. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014;2014(12):CD005999. DOI: 10.1002/14651858.CD005999.pub2.
 25. Ji H., Su Y., Zhang M., Li X., Li X., Ding H. et al. Functional ovarian cysts in artificial frozen-thawed embryo transfer cycles with depot gonadotropin-releasing hormone agonist. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2022;13:828993. DOI: 10.3389/fendo.2022.828993.
 26. Kostrzewa M., Zajac A., Wilczyński J.R., Stachowiak G. Retrospective analysis of transvaginal ultrasound-guided aspiration of simple ovarian cysts. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2019;28(11):1531–1535. DOI: 10.17219/acem/104549.
 27. Farquhar C., Rombauts L., Kremer J.A., Lethaby A., Ayeleke R.O. Oral contraceptive pill, progestogen or oestrogen pretreatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017;5(5):CD006109. DOI: 10.1002/14651858.CD006109.pub3.

Вклад авторов

Тимофеева О.С., Петров И.А., Тихоновская О.А., Логвинов С.В. – концепция и дизайн. Тимофеева О.С., Гайфулина Ж.Ф., Самойлова Ю.Г., Петрова М.С., Юрьев С.Ю., Дмитриева М.Л., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Михеенко Г.А. – поиск и анализ данных. Тимофеева О.С. – подготовка статьи. Петров И.А., Тихоновская О.А., Логвинов С.В. – окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

Информация об авторах

Тимофеева Оксана Сергеевна – ассистент, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, oks91@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5768-4031>

Петров Илья Алексеевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, obgynsib@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-0697-3896>

Гайфулина Жанна Фаимовна – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, jannagai@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9799-6558>

Тихоновская Ольга Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, tikhonovskaya2012@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4309-5831>

Логвинов Сергей Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, s_logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

Самойлова Юлия Геннадьевна – д-р мед. наук, профессор кафедры эндокринологии и диabetологии, зав. кафедрой педиатрии с курсом эндокринологии, СибГМУ, г. Томск, samoilova_y@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2667-4842>

Петрова Марина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, marina.gin2011@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7669-0405>

Юрьев Сергей Юрьевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, sergeiyuriev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1343-5471>

Дмитриева Маргарита Леонидовна – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, <https://orcid.org/0000-0002-2958-9424>

Жданкина Анна Александровна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, annazhdank@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4954-7416>

Герасимов Александр Владимирович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, av-gerasimov62@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

Михеенко Галина Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, mchnk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3869-1906>

✉ Тимофеева Оксана Сергеевна, oks91@bk.ru

Поступила в редакцию 04.09.2023;
одобрена после рецензирования 12.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Статус гидратации у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией острой сердечной недостаточности в зависимости от степени нарушения углеводного обмена

Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Галочкин С.А., Кобалава Ж.Д.

Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

РЕЗЮМЕ

Цель: изучить статус гидратации по клиническим и лабораторно-инструментальным параметрам при поступлении и выписке у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН), в зависимости от степени нарушения углеводного обмена (НУО).

Материалы и методы. В исследование были включены 280 пациентов (53% мужчин, средний возраст $70,1 \pm 10,8$ лет) с ОДХСН. Артериальную гипертензию в анамнезе имели 72,5%, ишемическую болезнь сердца – 60% пациентов. Всем пациентам для оценки статуса углеводного обмена проводили исследование уровня гликозилированного гемоглобина (HbA1c). Пациенты были разделены на группы в зависимости от полученных результатов: при значениях HbA1c < 5,7% включали в группу без НУО, 5,7–6,4% – в группу предиабета, $\geq 6,5\%$ – в группу с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). Пациентам проводили стандартное физическое обследование при поступлении и при выписке, а также делали клиническую и комплексную оценку застоя (определение концентрации мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), ультразвуковое исследование (УЗИ) легких, фибросканирование печени, включая расчет контролируемого параметра затухания ультразвука, биоимпедансный анализ состава тела).

Результаты. Частота НУО у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ХСН), составляет 57,5% ($n = 161$), при этом предиабет был выявлен в 17,1% ($n = 48$), СД2 – в 40,4% ($n = 113$) случаев. Застойные явления при поступлении отмечены у всех пациентов. Выявлены достоверно более высокая частота остаточного (61%) и более низкая частота субклинического застоя (10%) у пациентов с ХСН и СД2 в сравнении с пациентами без НУО (39% остаточный, 27% субклинический застой) и предиабетом (40% остаточный, 25% субклинический застой) соответственно. Не показано достоверных различий по частоте эволюции при выписке в зависимости от НУО.

Заключение. Пациентам с ОДХСН и НУО для оценки застойных явлений при выписке необходимо использовать клиническую и лабораторно-инструментальную оценку застоя. Однако у пациентов с ОДХСН и предиабетом предпочтительно сделать акцент на лабораторно-инструментальной оценке застоя, а пациентам с ОДХСН и СД2 – на клинической и лабораторно-инструментальной оценке застоя.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, оценка застоя, NT-proBNP, УЗИ легких, фибросканирование печени, нарушение углеводного обмена

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 № 28 от 15.04.2021).

Для цитирования: Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Галочкин С.А., Кобалава Ж.Д. Статус гидратации у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией острой сердечной недостаточности в зависимости от степени нарушения углеводного обмена. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):114–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-114-121>.

Hydration status in patients hospitalized with acute decompensated heart failure depending on the severity of glucose metabolism disorder

Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Galochkin S.A., Kobalava Zh.D.

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

ABSTRACT

Aim. To study the hydration status according to clinical parameters and laboratory and instrumental research findings at admission and discharge in patients hospitalized with acute decompensated heart failure (ADHF), depending on the severity of glucose metabolism disorder.

Materials and methods. The study included 280 patients (53% men, average age 70.1 ± 10.8 years) with ADHF. 72.5% of patients had arterial hypertension in the medical history, 60% of patients had coronary artery disease. In all patients, the level of glycated hemoglobin (HbA1c) was determined to assess the glucose metabolism status. The patients were divided into groups depending on the results obtained: at HbA1c values $< 5.7\%$, patients were included in the group without glucose metabolism disorders, at HbA1c of 5.7–6.4% – in the prediabetes group, at HbA1c $\geq 6.5\%$ – in the type 2 diabetes group. The patients underwent a standard physical examination at admission and at discharge, as well as a clinical and comprehensive assessment of congestion (determination of N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), lung ultrasound, liver Fibroscan testing, including calculation of a controlled attenuation parameter, bioimpedance analysis of the body).

Results. The frequency of glucose metabolism disorders in patients hospitalized with ADHF was 57.5% ($n = 161$), while prediabetes was detected in 17.1% of patients ($n = 48$) and type 2 diabetes – in 40.4% ($n = 113$) of cases. Congestion at admission was detected in all patients. A significantly higher frequency of residual (61%) and a lower frequency of subclinical congestion (10%) were revealed in patients with ADHF and type 2 diabetes, compared to patients without glucose metabolism disorders (39% for residual congestion, 27% for subclinical congestion) and prediabetes (40% for residual congestion, 25% for subclinical congestion), respectively. There were no significant differences in the frequency of euvolemia at discharge, depending on the glucose metabolism disorder.

Conclusion. To assess congestion phenomena at discharge, it is necessary to use clinical, laboratory, and instrumental assessments for patients with ADHF and glucose metabolism disorders. However, in patients with ADHF and prediabetes, it is preferable to focus on the laboratory and instrumental assessment of congestion, while in patients with ADHF and type 2 diabetes, both clinical and laboratory and instrumental assessment of congestion should be performed.

Keywords: heart failure, congestion assessment, NT-proBNP, lung ultrasound, liver Fibroscan testing, glucose metabolism disorder

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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. 28 of 15.04.2021).

For citation: Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Galochkin S.A., Kobalava Zh.D. Hydration status in patients hospitalized with acute decompensated heart failure depending on the severity of glucose metabolism disorder. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):114–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-114-121>.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) и сердечная недостаточность (СН) являются распространенными коморбидными состояниями. Кроме того, впервые выявленный СД2 и предиабет часто встречаются у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией сердечной недостаточности, и независимо связаны с повышенным риском как общей, так и сердечно-сосудистой смертности [1].

Ведущим патофизиологическим механизмом декомпенсации хронической сердечной недостаточности (ХСН) и причиной, определяющей потребность в госпитализации, является системный застой, наличие которого ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [2]. Именно системный застой приводит к нарушению функции органов мишеней, что имеет важное клиническое и прогностическое значение. Достаточно часто застойные явления могут оставаться незамеченными, так как в ряде случаев не проявляются клинически [3], а могут выявляться только лабораторными и (или) инструментальными методами. Среди инструментальных методов оценки застоя, которые, по данным литературы, имеют прогностическую ценность, являются исследование концентрации мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), оценка количества В-линий по данным ультразвукового исследования (УЗИ) легких, оценку плотности печени методом непрямой эластометрии, а также оценку гидратации методом биоимпедансного векторного анализа (БИВА). Пациенты с СД2 и СН, как со сниженной фракцией выброса (нФВ), так и с сохраненной (сФВ), характеризуются более худшим функциональным классом по NYHA и имеют больше симптомов и признаков, связанных с СН, чем пациенты без СД2 [4, 5]. В исследованиях CHARM, DIG и I-PRESERVE была показана большая частота симптомов и признаков застоя у пациентов с СД. Аналогичные данные у пациентов с предиабетом в литературе не представлены.

Таким образом, целью данного исследования было изучение статуса гидратации по клиническим и лабораторно-инструментальным параметрам при поступлении и выписке у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН) в зависимости от степени нарушения углеводного обмена (НУО) (предиабет, СД2) и без нарушений углеводного обмена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное наблюдательное исследование по изучению особенностей ХСН у пациентов с нарушениями углеводного обмена были включены

280 человек, госпитализированных с ОДХСН. Декомпенсацию ХСН диагностировали на основании действующих рекомендаций: появление или быстрое усугубление симптомов и признаков СН, требующих экстренной госпитализации пациента и проведения интенсивной терапии в сочетании с объективными признаками поражения сердца (систолическая и (или) диастолическая дисфункция, гипертрофия левого желудочка, расширение левого предсердия по данным эхокардиографии и повышение уровня NT-proBNP).

В исследование не включали больных с острым коронарным синдромом, терминальной почечной и печеночной недостаточностью, отеком синдромом некардиального генеза, активным онкологическим процессом, обострением хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астмы, больных с пневмонией, СД 1-го типа, выраженным когнитивным дефицитом, контактными или больными COVID-19, известным гепатитом (циррозом) печени, иммобилизацией и при невозможности выполнения БИВА (в случае ампутации конечностей, наличия язв или выраженных трофических изменений на коже конечностей, наличие металлических имплантов и конструкций).

Всем пациентам для оценки статуса углеводного обмена проводили определение уровня гликозилированного гемоглобина (HbA1c). Пациенты были разделены на группы в зависимости от полученных результатов: при значениях HbA1c < 5,7% включали в группу без НУО, 5,7–6,4% – в группу предиабета, ≥6,5% – в группу с СД2. Всем пациентам, включенным в исследование, в первые 24 ч от момента госпитализации и при выписке проводили стандартное физическое, лабораторное и инструментальное обследование, включая УЗИ легких, NT-proBNP, фиброэластометрию печени с расчетом контролируемого параметра затухания ультразвука (КПЗУ), БИВА состава тела (рис. 1).

Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Терапия пациентов на амбулаторном этапе представлена петлевыми диуретиками 72,8%, АМКР – 55%, иАПФ/БРА/АРНИ – 77,1%, бета-блокаторами – 70,0%, сердечными гликозидами – 18,5%, оральными антикоагулянтами – 55%. Все пациенты в стационаре получали петлевые диуретики, АМКР – 74,2%, иАПФ/БРА/АРНИ – 94,2%, бета-блокаторы – 95,3%, сердечные гликозиды – 18,5%, оральные антикоагулянты – 66%.

Для оценки клинического застоя использовали шкалу клинической оценки застоя Composite congestion score (CCS).

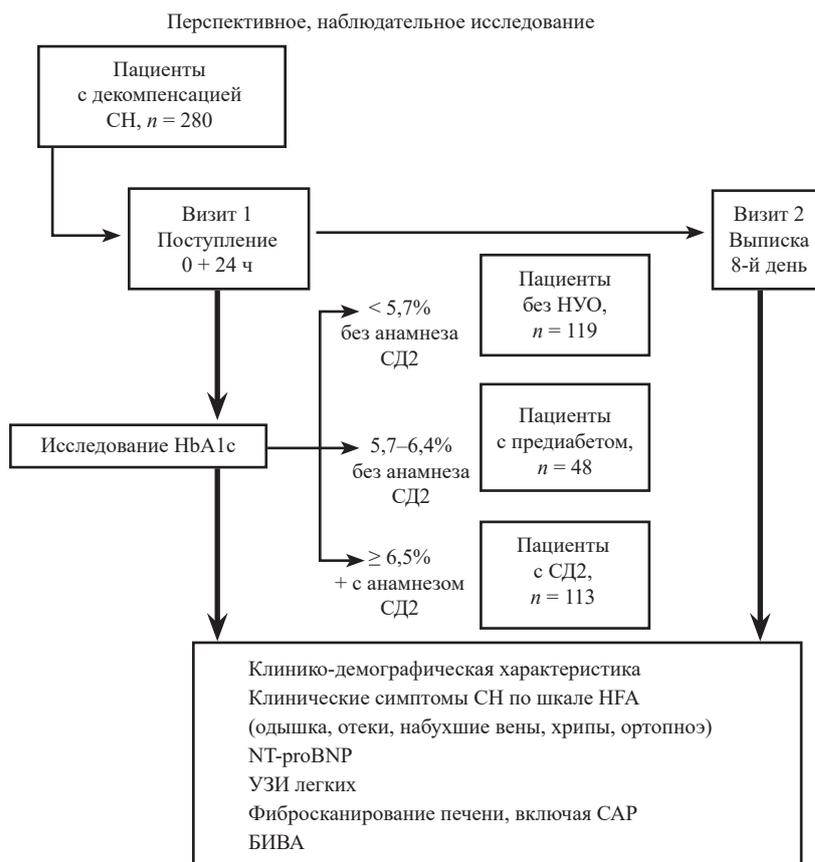


Рис. 1. Дизайн исследования

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов, включенных в исследование, n = 280	
Показатель	Значение
Пол (м/ж), n (%)	148 (53%)/ 132 (47%)
Возраст, годы, M ± SD	70,1 ± 10,8
ИМТ, кг/м ² , M ± SD	32,1 ± 5,7
ФК СН, NYHA, n (%):	
– II	90 (32%)
– III	123 (44%)
– IV	67 (24%)
ФВ ЛЖ, %, n (%)	45,1 ± 11,9
ФВ ЛЖ:	
<40%	84 (30%)
40–49%	71 (25%)
≥50%	125 (45%)
Артериальная гипертония, n (%)	203 (72,5%)
ОНМК в анамнезе, n (%)	36 (13%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	167 (60%)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	106 (38%)
Фибрилляция (трепетание) предсердий, n (%)	185 (66%)
Хроническая болезнь почек, n (%)	73 (26%)
ХОБЛ/БА, n (%)	47 (17%)

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ФК – функциональный класс, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

Оценивали в баллах ортопноэ, набухание шейных вен и периферические отеки. Каждый клинический симптом и признак оценивали в день поступления и выписки. При суммировании баллов наличие ≥ 1 балла считали клиническим застоем при поступлении и остаточным застоем с клиническими проявлениями при выписке.

Определение концентрации биомаркера NT-proBNP проводили методом иммуноферментного анализа с использованием тест систем NT-proBNP-ИФА-БЕСТ, набор реагентов А-9102 (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Ультразвуковое исследование легких (VIVIDiq, GE) с подсчетом суммы В-линий, выполняли в восьми областях. Непрямую эластометрию печени выполняли при помощи аппарата FibroScan® 502 touch (Echosens, Франция) по стандартной методике. Биоимпедансный векторный анализ проводили с помощью российского серийного биоимпедансного анализатора АВС-01 (ООО НТЦ «Медасс», Россия).

Ультразвуковое исследование легких расценивали как метод оценки застоя по малому кругу кровообращения, непрямую эластометрию печени – как метод оценки застоя по большому кругу кровообращения, БИВА и NT-proBNP – как методы оценки системного

застоя. На момент выписки из стационара были выделены группы пациентов с остаточным застоем (клиническим + лабораторно-инструментальным), пациенты с субклиническим застоем, а также пациенты, достигшие эуволемии или состояния компенсации.

Об остаточном застое при выписке свидетельствовало наличие клинических и инструментальных (лабораторных) данных, подтверждающих наличие застоя. О субклиническом застое свидетельствовали отсутствие клинических и наличие инструментальных данных, подтверждающих наличие застоя. Отсутствие клинических и инструментальных данных, подтверждающих наличие застоя, расценивали как состояние эуволемии или компенсации.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение MedCalcSoftware's VAT Version 19.0 и IBMSPSS Statistics (версия 26.0). Данные представлены как среднее арифметическое значение и стандартное отклонение среднего значения ($M \pm SD$) при нормальном распределении или как медиана и межквартильный интервал ($Me(Q_1; Q_3)$) при асимметричном распределении.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота НУО у пациентов, госпитализированных с ОДХСН, составляет 57,5% ($n = 161$), при этом предиабет был выявлен в 17,1% ($n = 48$), СД2 – в 40,4% ($n = 113$) случаев.

У всех пациентов, госпитализированных с ОДХСН, был проанализирован статус застойных явлений при поступлении и выписке. Застойные явления при поступлении были выявлены у всех пациентов. Пациенты с НУО при поступлении имели достоверно более высокую частоту типичных клинических симптомов и признаков ХСН, таких как хрипы в легких, ортопноэ, набухшие шейные вены и отеки нижних конечностей, а также более высокие значения плотности печени и КПЗУ, числа В-линий по УЗИ легких, уровня NT-proBNP, достоверно более низкие показатели теста с 6-минутной ходьбой (Т6МХ), активного сопротивления и импеданса по БИВА, что свидетельствует в пользу более выраженных проявлений застоя в отличие от пациентов без НУО (табл. 2).

Таблица 2

Клиническая и лабораторно-инструментальная оценка застоя у пациентов с ОДХСН в зависимости от степени НУО при поступлении, $n = 280$			
Показатель	ХСН без НУО, $n = 119$	ХСН с предиабетом, $n = 48$	ХСН с СД2, $n = 113$
Т6МХ, м, $M \pm SD$	255,2 \pm 111,4	211,3 \pm 116,2*	227,7 \pm 9,3*#
Клиническая оценка застоя			
Одышка, n (%)	113 (94,9)	46 (95,8)	111 (98,2)
Хрипы в легких, n (%)	50 (42,0)	37 (77,1)***	78 (69)*
Ортопноэ, n (%)	79 (66,4)	35 (72,9)***	78 (69)
Набухшие шейные вены, n (%)	46 (38,7)	23 (47,9)**	52 (46)
Отеки нижних конечностей, n (%)	73 (61,3)	41 (85,4)**	105 (92,9)*
Лабораторно-инструментальная оценка застоя			
NT-proBNP, пг/мл, $Me(Q_1; Q_3)$	1 700 (690; 2 901)	1 797 (1 040; 2 941)	2 130 (1 150; 3 201)*
Число В-линий, $M \pm SD$	31,4 \pm 17	34,9 \pm 15,4	36 \pm 17,9*
Плотность печени, кПа, $M \pm SD$	10,6 \pm 8,9	14,3 \pm 10,2**	14,3 \pm 108**
КПЗУ, дБ/м, $M \pm SD$	231 \pm 72,1	254,9 \pm 51,4**	256,9 \pm 55,3**
Активное сопротивление, Ом, $M \pm SD$	403,5 \pm 76,9	382,5 \pm 74,9	377,8 \pm 73,48
Реактивное сопротивление, Ом, $M \pm SD$	35,6 \pm 9,3	32,5 \pm 10,7	33,2 \pm 9,8
Импеданс Z, БИВА, $M \pm SD$	405,2 \pm 77,1	383,9 \pm 75,4	379,3 \pm 73,9*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – в сравнении с группой ХСН без НУО;

$p < 0,05$ – в сравнении с группой ХСН с предиабетом (здесь и в табл. 3).

Таблица 3

Клиническая и лабораторно-инструментальная оценка застоя у пациентов с ОДХСН в зависимости от степени НУО при выписке, $n = 280$			
Показатель	ХСН без НУО, $n = 119$	ХСН с предиабетом, $n = 48$	ХСН с СД2, $n = 113$
Клиническая оценка застоя			
Одышка, n (%)	55 (46,2%)	26 (54,1%)	65 (57,5%)
Хрипы в легких, n (%)	15 (12,6%)	12 (25,0%)	40 (35,3%)***
Ортопноэ, n (%)	25 (21,0%)	11 (22,9%)	30 (26,5%)
Набухшие шейные вены, n (%)	19 (15,9%)	9 (18,7%)	24 (21,2%)
Отеки нижних конечностей, n (%)	24 (20,1%)	17 (35,4%)	59 (52,2%)***#

Показатель	ХСН без НУО, <i>n</i> = 119	ХСН с предиабетом, <i>n</i> = 48	ХСН с СД2, <i>n</i> = 113
Лабораторно-инструментальная оценка застоя			
NT-proBNP, пг/мл, <i>Me (Q₁; Q₃)</i>	693,5 (341; 1 501)	957 (659; 1 727)***	1 252 (904; 2 146)***
Число В-линий, <i>M ± SD</i>	16,5 ± 11,9	21,9 ± 15,6**	21,8 ± 11,1**
Плотность печени, кПа, <i>M ± SD</i>	5,6 ± 2,2	7,6 ± 4,4	7,8 ± 4,6
Активное сопротивление, Ом, <i>M ± SD</i>	454,0 ± 74,7	417,4 ± 81,1***	415,8 ± 80,0***
Реактивное сопротивление, Ом, <i>M ± SD</i>	42,8 ± 9,2	38,4 ± 11,6**	38,4 ± 9,8**
Импеданс Z, БИВА, <i>M ± SD</i>	456,0 ± 75,1	419,2 ± 81,7**	417,7 ± 80,5**

Клиническая и лабораторно-инструментальная оценка застоя у пациентов с ОДХСН в зависимости от степени НУО при выписке представлены в табл. 3. При выписке частота остаточного застоя у пациентов с НУО была достоверно выше (55% против 39%, $p < 0,01$), у субклинического застоя достоверно ниже (14% против 27%, $p < 0,01$), чем в группе без НУО. При этом частота застоя в группе с предиабетом была сопоставима с группой без НУО, различия по частоте были выявлены за счет группы пациентов с СД2 (рис. 2). Не выявлено достоверных различий по частоте эуволемии или состояния компенсации при выписке в зависимости от НУО.

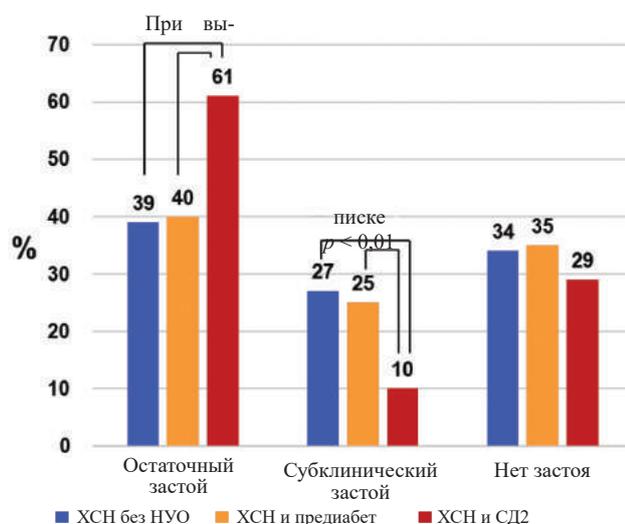


Рис. 2. Частота застоя при выписке в группах наблюдения

ОБСУЖДЕНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность и сахарный диабет являются достаточно распространенными заболеваниями. В общей популяции ХСН ассоциируется с более высокой распространенностью СД2 по сравнению с пациентами без ХСН [4–6]. В нашем исследовании частота НУО у пациентов, госпитализированных с ОДХСН, составила 57,5%, при этом предиабет был выявлен в 17,1%, СД2 – в 40,4% случаев, что согласуется с данными литературы. В регистрах госпитализированных пациентов с СН в Северной Америке и Европе распространенность

СД2 составляет около 40–45% [7]. Согласно данным крупного европейского регистра, СД диагностируется у 36% амбулаторных пациентов со стабильной СН [8], в то время как среди пациентов, госпитализированных по поводу острой СН, СД выявляется у $\leq 50\%$ [9].

В клинических исследованиях пациентов с ХСН распространенность СД2 составила около 30% независимо от фенотипа СН (т.е. СНнФВ и СНсФВ) [3, 5, 8, 10–16]. Важно отметить, что у пациентов с СН без СД риск развития СД выше и возрастает при нарастании тяжести СН и использовании петлевых диуретиков [17]. Кроме того, впервые выявленный СД2 и предиабет часто встречаются у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией ХСН. В исследовании PARAGON-HF, в котором участвовали 4 796 пациентов с СНсФВ, у 50% был выявлен СД2, а у 18% – предиабет, т.е. нарушения углеводного обмена имели две трети пациентов. В исследовании PARADIGM-HF было показано, что среди 8 274 пациентов с систолической СН указания на наличие СД2 в анамнезе имели 35%. Проведенное перед началом исследования обследование определило дополнительно 13% пациентов с впервые выявленным СД2 ($HbA1c > 6,5\%$) и 25% с предиабетом ($HbA1c 6,0–6,4\%$). То есть у 38% пациентов, доживших до СН с ФВ ЛЖ $\leq 40\%$, не были вовремя выявлены клинически значимые НУО (предиабет и СД2) [5].

Перегрузка объемом и застойные явления остаются распространенными причинами госпитализаций с СН. У пациентов с СД наблюдаются повышенная нейрогуморальная активация и изменения в усвоении натрия, что может предрасполагать к застойным явлениям, кардиоренальному синдрому и снижению чувствительности к диуретикам. Гипергликемия на фоне СД вызывает повышенную регуляцию натрий-глюкозного котранспортера-2, что приводит к увеличению абсорбции натрия проксимальными отделами почек, увеличению объема и снижению чувствительности к диуретикам [18].

В исследованиях CHARM, DIG и I-PRESERVE у пациентов с СД была показана большая частота симптомов и признаков застоя. Несмотря на то что в исследовании GWTG-HF статус застоя напрямую

не изучался, у пациентов с СД2 было выявлена большая частота необходимости в механической вентиляции легких, диализа/ультрафильтрации, а также ухудшение функции почек, что может свидетельствовать об увеличении нагрузки. В исследовании SOLVD-Prevention показано, что у пациентов с бессимптомной систолической дисфункцией ЛЖ и СД2 имелась более высокая вероятность прогрессирования до симптоматической СН, чем у лиц без СД2 [19].

В нашем исследовании показано, что не только у пациентов с СД2, но уже и у пациентов с предиабетом при поступлении наблюдается достоверно более высокая частота типичных клинических симптомов и признаков ХСН, таких как хрипы в легких (69% и 77,1% против 42%), ортопноэ (6 и 72,9% против 66,4%), набухшие шейные вены (46 и 47,9% против 38,7%) и отеки нижних конечностей (92,9 и 85,4% против 61,3%) в отличие от пациентов без НУО соответственно. Помимо этого пациенты с НУО характеризовались достоверно более выраженными лабораторно-инструментальными признаками застоя. Так, у пациентов с СД2 и предиабетом в отличие от пациентов без НУО наблюдались достоверно более высокие значения плотности печени ($14,3 \pm 10,8$ и $14,3 \pm 10,2$ кПа против $10,6 \pm 8,9$ кПа; $p < 0,01$) и индекса САР ($256,9 \pm 55,3$ и $254,9 \pm 51,4$ дБ/м против $231,0 \pm 72,1$ дБ/м; $p < 0,01$), числа В-линий по УЗИ легких ($36 \pm 17,9$ и $34,9 \pm 15,4$ против $31,4 \pm 17,0$; $p < 0,05$), уровня NT-proBNP (2 130 и 1 797 пг/мл против 1700 пг/мл; $p < 0,05$), достоверно более низкие показатели импеданса по БИВА ($379,3 \pm 73,9$ и $383,9 \pm 75,4$ против $405,2 \pm 77,1$; $p < 0,05$).

Пациенты с ХСН и СД2 при выписке характеризовались достоверно более высокой частотой остаточного (61%) и более низкой частотой субклинического застоя (10%) в сравнении с пациентами без НУО (39% остаточный, 27% субклинический застой) и предиабетом (40% остаточный, 25% субклинический застой) соответственно. Достоверных различий по частоте достижения эуволемии при выписке в зависимости от НУО не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациентам ОДХСН и НУО для оценки застойных явлений при выписке необходимо использовать клиническую и лабораторно-инструментальную оценку застоя. Однако у пациентов с ОДХСН и предиабетом предпочтительно сделать акцент на лабораторно-инструментальной оценке застоя, а пациентам ОДХСН и СД2 – на клинической и лабораторно-инструментальной оценке застоя.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pavlovic A., Polovina M., Ristic A., Seferovic J.P., Veljic I., Simeunovic D. et al. Long-term mortality is increased in patients with undetected prediabetes and type-2 diabetes hospitalized for worsening heart failure and reduced ejection fraction. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019;26(1):72–82. DOI: 10.1177/2047487318807767.
2. Girerd N., Seronde M., Coiro S., Chouihed T., Bilbault P., Braun F. et al. Integrative assessment of congestion in heart failure throughout the patient journey. *JACC Heart Fail.* 2018;6(4):273–285. DOI: 10.1016/j.jchf.2017.09.023.
3. Pellicori P., Kaur K., Clark A. Fluid management in patients with chronic heart failure. *Cardiac Fail. Rev.* 2015;1(2):90–95. DOI: 10.15420/cfr.2015.1.2.90.
4. Banks A.Z., Mentz R.J., Stebbins A., Mikus C.R., Schulte P.J., Fleg J.L. et al. Response to exercise training and outcomes in patients with heart failure and diabetes mellitus: insights from the HF-ACTION trial. *J. Card. Fail.* 2016;22(7):485–491. DOI: 10.1016/j.cardfail.2015.12.007.
5. Kristensen S.L., Preiss D., Jhund P.S., Squire I., Cardoso J.S., Merkely B. et al. Risk related to pre-diabetes mellitus and diabetes mellitus in heart failure with reduced ejection fraction: insights from Prospective Comparison of ARNI With ACEI to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure Trial. *Circ. Heart Fail.* 2016;9(1):e002560. DOI: 10.1161/circheartfailure.115.002560.
6. Suskin N., McKelvie R.S., Burns R.J., Latini R., Pericak D., Probstfield J. et al. Glucose and insulin abnormalities relate to functional capacity in patients with congestive heart failure. *Eur. Heart J.* 2000;21(16):1368–1375. DOI: 10.1053/ehj.1999.2043.
7. Pazin-Filho A., Kottgen A., Bertoni A.G., Russell S.D., Selvin E., Rosamond W.D. et al. HbA 1c as a risk factor for heart failure in persons with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetologia.* 2008;51(12):2197–2204. DOI: 10.1007/s00125-008-1164-z.
8. Dauriz M., Targher G., Laroche C., Temporelli P.L., Ferrari R., Anker S. et al. ESC-HFA Heart Failure Long-Term Registry. Association between diabetes and 1-year adverse clinical outcomes in a multinational cohort of ambulatory patients with chronic heart failure: results from the ESC-HFA Heart Failure Long-Term Registry. *Diabetes Care.* 2017;40(5):671–678. DOI: 10.2337/dc16-2016.
9. Targher G., Dauriz M., Laroche C., Temporelli P.L., Hassanein M., Seferovic P.M. et al. In-hospital and 1-year mortality associated with diabetes in patients with acute heart failure: results from the ESC-HFA Heart Failure Long-Term Registry. *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19(1):54–65. DOI: 10.1002/ehfj.679.
10. McMurray J.J., Packer M., Desai A.S., Gong J., Lefkowitz M.P., Rizkala A.R. et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl. J. Med.* 2014;371(11):993–1004. DOI: 10.1056/nejmoa1409077.
11. Kristensen S.L., Mogensen U.M., Jhund P.S., Petrie M.C., Preiss D., Win S. et al. Clinical and echocardiographic characteristics and cardiovascular outcomes according to diabetes status in patients with heart failure and preserved ejection frac-

- tion: a report from the I-Preserve Trial (Irbesartan in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction). *Circulation*. 2017; 135(8):724–735. DOI: 10.1161/circulationaha.116.024593.
12. Ahmed A., Rich M.W., Fleg J.L., Zile M.R., Young J.B., Kitzman D.W. et al. Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary Digitalis Investigation Group trial. *Circulation*. 2006;114(5):397–403. DOI: 10.1161/circulationaha.106.628347.
 13. Ingle L., Reddy P., Clark A.L., Cleland J.G. Diabetes lowers six-minute walk test performance in heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47(9):1909–1910. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.02.005.
 14. Arnold S., Yap J., Lam C., Tang F., Tay W., Teng T. et al. Management of patients with diabetes and heart failure with reduced ejection fraction: an international comparison. *Diabetes Obes. Metab.* 2019;21(2):261–266. DOI: 10.1111/dom.13511.
 15. Kristensen S.L., Jhund P.S., Lee M.M., Kober L., Solomon S.D., Granger C.B. et al. Prevalence of prediabetes and undiagnosed diabetes in patients with HFpEF and HFrEF and associated clinical outcomes. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2017;31(5-6):545–549. DOI: 10.1007/s10557-017-6754-x.
 16. Seferovic P.M., Paulus W.J. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *Eur. Heart J.* 2015;36(27):1718–1727. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv134.
 17. Demant M.N., Gislason G.H., Kober L., Vaag A., Torp-Pedersen C., Andersson C. Association of heart failure severity with risk of diabetes: a Danish nationwide cohort study. *Diabetologia*. 2014;57(8):1595–1600. DOI: 10.1007/s00125-014-3259-z.
 18. Heerspink H.J., Perkins B.A., Fitchett D.H., Husain M., Cherney D.Z. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors in the treatment of diabetes mellitus: cardiovascular and kidney effects, potential mechanisms, and clinical applications. *Circulation*. 2016;134(10):752–72. DOI: 10.1161/circulationaha.116.021887.
 19. Das S.R., Drazner M.H., Yancy C.W., Stevenson L.W., Gersh B.J., Dries D.L. Effects of diabetes mellitus and ischemic heart disease on the progression from asymptomatic left ventricular dysfunction to symptomatic heart failure: a retrospective analysis from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Prevention trial. *Am. Heart J.* 2004;148(5):883–888. DOI: 10.1016/j.ahj.2004.04.019.

Вклад авторов

Толкачева В.В. – концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста. Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Назаров И.С., Смирнов И.П. – сбор и обработка материалов. Кабельо Монтойа Ф.Э., Галочкин С.А. – анализ полученных данных, написание текста. Кобалава Ж.Д. – концепция и дизайн исследования.

Информация об авторах

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

Диане Мохамед Ламин – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, mohamedlamine@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4796-4638>

Хуцишвили Нуцико Ивановна – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, nutsiko.khutsishvili@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-2669-8092>

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

Назаров Иван Сергеевич – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, nazarovradomla@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0950-7487>

Смирнов Илья Павлович – ординатор, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, zzevor@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-0285-1752>

Галочкин Святослав Александрович – канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, galochkin-sa@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7370-8606>

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

✉ Толкачева Вероника Владимировна, tolkachevav@mail.ru

Поступила в редакцию 12.07.2023;
одобрена после рецензирования 05.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Математическое моделирование физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей

Толмачев И.В.^{1,4}, Анисин А.В.², Бала А.М.², Вражнов Д.А.¹, Шаповалов А.В.¹,
Котловский М.Ю.⁴, Лаптев В.В.³, Бразовский К.С.^{1,3}

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

² Военно-медицинская академия (ВМА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

⁴ Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения
(ЦНИИОиИЗ)
Россия, 127254, г. Москва, ул. Добролюбова, 11

РЕЗЮМЕ

Целью настоящего исследования является применение интегративных физиологических математических моделей для моделирования физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей.

Материалы и методы. На первом этапе математического моделирования использовались интегративные физиологические модели с сосредоточенными параметрами, а на втором этапе – нейронные сети.

Результаты. Разработана система поддержки принятия врачебных решений, позволяющая по данным физиологического мониторинга определять интенсивность кровопотери при минно-взрывной травме нижних конечностей.

Заключение. Разработанные подходы позволяют частично решить проблему, связанную с невозможностью накопления достаточного количества медицинских данных для конкретного человека с целью создания адекватной персонализированной модели поддержки принятия врачебных решений.

Ключевые слова: математическое моделирование, травматический шок, кровотечение, системы поддержки принятия врачебных решений

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: Толмачев И.В., Анисин А.В., Бала А.М., Вражнов Д.А., Шаповалов А.В., Котловский М.Ю., Лаптев В.В., Бразовский К.С. Математическое моделирование физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):122–129. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-122-129>.

Mathematical modeling of physiological parameters in traumatic shock caused by lower limb blast injury

Tolmachev I.V.^{1,4}, Anisin A.V.², Bala A.M.², Vrazhnov D.A.¹, Shapovalov A.V.¹, Kotlovskiy M.Yu.⁴, Laptev V.V.³, Brazovskiy K.S.^{1,3}

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² S.M. Kirov Military Medical Academy
6, Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

³ National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ Federal Research Institute for Healthcare Organization and Informatization
11, Dobrolyubova Str., Moscow, 127254, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to apply integrative physiological mathematical models to simulate physiological parameters in traumatic shock caused by lower limb blast injury.

Materials and methods. At the first stage of mathematical modeling, we applied lumped parameter integrative physiological models, and at the second stage we used neural networks.

Results. We developed a clinical decision support system that allows to determine the intensity of blood loss in lower limb blast injuries according to physiological monitoring data.

Conclusion. The developed approaches make it possible to partially solve the problem associated with the impossibility of accumulating a sufficient amount of medical data for a specific person to create an adequate personalized clinical decision support system.

Keywords: mathematical modeling, traumatic shock, bleeding, clinical decision support systems

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

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

For citation: Tolmachev I.V., Anisin A.V., Bala A.M., Vrazhnov D.A., Shapovalov A.V., Kotlovskiy M. Yu. , Laptev V.V., Brazovskiy K.S. Mathematical modeling of physiological parameters in traumatic shock caused by lower limb blast injury. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):122–129. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-122-129>.

ВВЕДЕНИЕ

Оценка степени тяжести и прогнозирование развития травматического шока при минно-взрывной травме является актуальной задачей современной военной медицины. Взрывная травма является особым видом огнестрельной травмы, характеризующейся совокупностью повреждений, возникающих от воздействия поражающих факторов взрыва. Взрывные повреждения требуют особого подхода к процессу оценки тяжести выявленных повреждений и состояния раненых, что является залогом эффек-

тивности проведения лечебно-эвакуационных мероприятий [1].

Развитие травматического шока определяется видом травмы, объемом механического повреждения тканей и органов, величиной кровопотери и гиповолемией, интенсивностью боли и реакцией – ответом организма на агрессию, продолжительностью патологического состояния. Патогенетически травматический шок является сложной многокомпонентной реакцией организма на тяжелое механическое повреждение и рассматривается клиницистами как первый этап травматической болезни. Основной

патогенетический элемент шока – генерализованная тканевая гипоперфузия, нарушающая гомеостатические механизмы и приводящая к необратимым клеточным повреждениям. Гипоперфузия тканей влечет за собой развитие необратимых метаболических, биохимических, энзиматических клеточных нарушений, а при отсутствии адекватного лечения – летальный исход [2].

Понятия «тяжесть травмы», «тяжесть повреждения» и «тяжесть состояния» взаимосвязаны, но не идентичны. Тяжесть повреждения зависит от его локализации, обширности анатомических разрушений и функциональной значимости пострадавшего органа или анатомо-функциональной области. Тяжесть состояния связана с тяжестью повреждения и определяется степенью выраженности функциональных расстройств, временем, прошедшим с момента травмы, исходным состоянием пострадавшего и объемом медицинской помощи. Высокую эффективность показали методы оценки тяжести травмы с использованием комбинированных подходов, включающих параметры тяжести повреждений (морфологические признаки) и параметры тяжести состояния (функциональные признаки) [3–5]. В настоящей статье акцент сделан на оценке функциональных признаков, что подразумевает дальнейшее расширение разрабатываемой методологии дополнительными критериями оценки тяжести повреждений.

Многочисленные классификации острой кровопотери с развитием шоковых состояний в конце концов сводятся к обсуждению роли двух компонентов нарушения кислородно-транспортной функции крови. Первый связан с нарушением сократимости миокарда вследствие нескольких причин: гипоксии, ишемии миокарда, влияния миокардиодепрессирующих факторов различной этиологии, сопутствующей патологии, применяемой тактики интенсивной терапии и других. Второй, наиболее обсуждаемый и напрямую обусловленный кровопотерей, – с первичными нарушениями кровообращения вследствие дефицита объема циркулирующей крови, и поэтому при развитии метаболических, микроциркуляторных нарушений носит название гиповолемического шока. Однако причина возникновения шока вследствие острой кровопотери имеет первостепенное практическое значение только на ранних стадиях процесса, так как впоследствии из-за сходности патофизиологических механизмов утрачивает свою специфичность, связанную с этиологическим фактором [6]. Исходя из вышесказанного, применение методов математического моделирования может оказаться полезным для решения задачи разработки системы поддержки принятия врачебных решений

(СППВР) при оценке степени тяжести и прогнозировании развития травматического шока в процессе мониторинга состояния военнослужащего на переловых этапах эвакуации, а также при разработке сценариев для симуляционного обучения.

Целью настоящего исследования является применение интегративных физиологических математических моделей для моделирования физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей, использовался многоплатформенный универсальный симулятор физиологии человека Pulse Physiology Platform [7], модифицированный нами для работы. Система используется для обеспечения точного и согласованного физиологического моделирования в реальном времени. Структура разработанной платформы включает основное ядро, представляющее собой базовое программное обеспечение, которое управляет составляющими платформы с помощью интерфейсов. Компонентами платформы являются верифицированные модели физиологических механизмов и фармакокинетические (фармакодинамические) модели. Эти модели относятся к классу математических моделей с сосредоточенными параметрами и построены на основе обыкновенных дифференциальных уравнений, учитывающих механизмы обратных связей.

В отличие от систем, в которых модели с сосредоточенными параметрами обычно используются для моделирования отдельных физиологических функций и поведения, платформа используется для моделирования физиологического состояния организма на основе взаимодействия физиологических функций в каждой отдельной подсистеме.

Сердечно-сосудистая подсистема включает в себя работу сердца и сосудов малого и большого круга кровообращения, а дыхательная подсистема моделирует различные компоненты дыхательных путей легких. Эти две подсистемы взаимодействуют через легочно-капиллярно-альвеолярный барьер, чтобы обеспечить перенос газов. Моделирование включает в себя диффузию за счет парциального давления между жидкостью (кровью) и газом (воздухом). Результатом моделирования являются значения давления и объема в капиллярах и дыхательных путях. Механизмы обратной связи реализованы через барорецепторы. Барорецепторный механизм обеспечивает быстрый отрицательный контроль артериального давления (АД) на основе обратной связи. Падение

АД детектируется барорецепторами и приводит к увеличению частоты сердечных сокращений (ЧСС) и сопротивления сосудов. Эти изменения нужны для поддержания постоянного АД в состоянии покоя путем вычисления симпатического (1) и парасимпатического (2) ответа:

$$\eta_s(P_a) = [1 + P_a / P_{a,s}]^v, \quad (1)$$

$$\eta_p(P_a) = [1 + P_a / P_{a,s}]^{-v}, \quad (2)$$

где v – параметр барорецептора, P_a – среднее АД, $P_{a,s}$ – заданное значение P_a . Эти величины затем используются для расчета изменений ЧСС (HR) (3), эластичности (E) (4), системного сосудистого сопротивления (R) (5) и емкости (C) (6):

$$dHR / dt = -\tau_{HR}^{-1} (-HR + \alpha_{HR} \eta_s(P_a) + \beta_{HR} \eta_p(P_a) + \gamma_{HR}), \quad (3)$$

$$dE / dt = -\tau_E^{-1} (-E + \alpha_E \eta_s(P_a) + \gamma_{HR}), \quad (4)$$

$$dR / dt = -\tau_R^{-1} (-R + \alpha_R \eta_s(P_a) + \gamma_R), \quad (5)$$

$$dC / dt = -\tau_C^{-1} (-R + \alpha_C \eta_s(P_a) + \gamma_C), \quad (6)$$

Здесь HR , E , R , C – относительные величины ЧСС, эластичность, сопротивление сосудов и податливости соответственно; α , β , γ – параметры модели; τ – временные параметры соответствующих процессов. Эти зависящие от времени изменения вводятся в модель сердечно-сосудистой системы путем изменения компонентов с сосредоточенными параметрами, задаются масштабные коэффициенты, определяющие сопротивление сосудов, объем циркулирующей крови и скорость работы сердца.

С точки зрения математического моделирования, объем генерируемых физиологических данных ограничен только вариациями независимых переменных. Поэтому существует принципиальная возможность генерации сколь угодно большого массива данных для последующего обучения модели СППВР. Для тестирования подхода был сгенерирован массив данных, содержащий 10 000 000 записей, включающих изменения физиологических параметров в течение 20 мин: диастолическое артериальное давление (ДАД), систолическое артериальное давление (САД), ЧСС, частота дыхания (ЧД), сатурация крови кислородом (SpO_2), температура при взрывной травме нижних конечностей, сопровождающейся острой кровопотерей различной интенсивности (шаг моделирования скорости кровопотери из нижних конечностей 10 мл/мин). Общий объем сгенерированных данных составил 16,2 Гб данных в формате CSV.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По своей природе разрабатываемая СППВР относится к одному из видов киберфизических систем, подразумевает совокупность физических процес-

сов и систем, компьютерных и других устройств, Интернет-ресурсов и пользователей, согласованно взаимодействующих между собой посредством компьютерных реализаций алгоритмов (протоколов), направленных на решение широкого круга многоцелевых задач в области сетевых технологий. Для визуализации данных в реальном времени было разработано программное обеспечение, позволяющее генерировать модельные сигналы, согласно заданным начальным условиям математической модели (рис. 1).

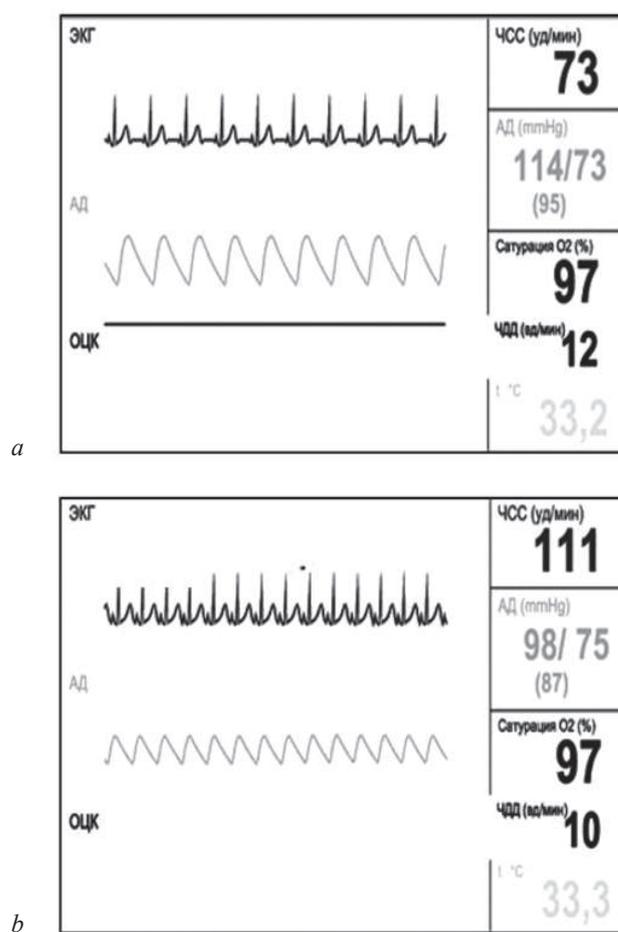


Рис. 1. Пример результатов математического моделирования физиологических показателей при травматическом шоке, вызванном взрывной травмой нижних конечностей: *a* – исходное состояние; *b* – состояние компенсированного травматического шока

Полученные в результате решения прямой задачи математического моделирования физиологические показатели представляют собой массив данных, в котором сопоставлены вариации физиологических параметров в динамике, позволяющие выявить наиболее вероятную комбинацию витальных показателей при различной интенсивности кровопотери.

Разработка итоговой СППВР включает в себя несколько этапов: 1) формирование персонафицированной базы данных (БД) обследуемого человека на основе измерения физиологических параметров, моделирование спектра физиологических состояний как в нормальных, так и в критических ситуациях на базе применяемого в системе компьютерного симулятора физиологических функций человека; 2) обучение применяемого в системе классификатора, способного определить характер патологического состояния человека посредством сравнения потока измеряемых физиологических параметров человека с набором записей в персонафицированной БД.

Приоритетная задача СППВР состоит в мониторинге измеряемых с помощью датчиков витальных физиологических параметров человека, формировании информационного потока медицинских данных в установленном формате программными средствами, работе программного модуля сравнения информационного потока данных с персонафицированной БД с целью своевременного обнаружения критического состояния (КС). В случае обнаружения критического состояния определяется его тип (проводится индексация КС) и информация о КС и его типе передается сообщением ответственному за принятие врачебного решения.

Общая схема разрабатываемой СППВР представлена на рис. 2, 3. В этой системе модуль 1 реализуется на базе программного комплекса Pulse Engine, генерирующего персонафицированную БД объекта; модуль 2, выполняющий функцию классификации состояний объекта, реализуется в виде набора глубоких нейронных сетей, обученных по БД объекта. СППВР включает следующие взаимосвязанные структурные элементы: массив X векторов персонафицированной БД, полученных измерениями параметров состояния (см. рис. 2).

Модуль 2 выполняет функцию мониторинга функциональных состояний объекта посредством сравнения входного потока измеряемых физиологических параметров объекта, обнаружения КС и его индексацию. В разрабатываемой системе модуль 2 реализуется в виде нейронных сетей. Обучение нейронных сетей, позволяющее определить КС объекта, проводится по набору КС персонафицированной БД объекта, генерируемому модулем 1.

Массив входных данных состоит из векторов X первичных данных пациента. Вектор X имеет следующую структуру: $X = (X_1, X_2)$. Здесь X_1 – вектор антропометрических параметров, а X_2 – вектор физиологических параметров пациента.

Компонентами вектора X_1 являются такие параметры, как рост, вес, пол, исходные значения виталь-

ных показателей в покое и при нагрузке. При необходимости перечень входных параметров может быть существенно расширен. В настоящее время большая часть входных параметров (параметры эндокринной системы, систем гемостаза, нервной системы и т.д.) записаны как среднестатистические параметры.

Компонентами вектора X_2 являются: ЧСС (число сокращений/мин); SpO_2 , в норме 95 %; ЧД (число вдохов/мин); АД (мм рт. ст.); ДА; температура ($^{\circ}C$). Рассмотрим более подробно структурные элементы СППВР, представленной на рис. 2.

Подаваемый на вход системы вектор (X) состоит из измеренных параметров состояния пациента. Список физиологических параметров пациента может быть скорректирован в зависимости от конкретных условий применения СППВР.

Модуль 1 выполняет функцию генерации персонафицированной БД пациента, состоящей из модельных векторов (Y) состояния пациента в заданном диапазоне изменения параметров модели ($a = (a_1, \dots, a_k)$). В разрабатываемой СППВР эту функцию выполняет Pulse Physiology Platform.

Для заданного набора параметров модели a и входного вектора X модуль 1 генерирует на выходе временной ряд векторов $Y(a, t)$ (информационный поток данных объекта). Временная переменная t с шагом дискретизации δ определяется как характерное время моделируемого физиологического процесса. Например, для кровопотери можно выбрать шаг, равный 1 мин. Шаг δ выбирается «малым» по сравнению с тем следствием, которое он вызывает, т.е. когда моделируемый процесс приводит к изменению состояния объекта (к переходу от нормального состояния к критическому). Временной ряд возникает вследствие того, что, например, процесс кровопотери не сразу приводит к переходу от нормального состояния к критическому (действие кровопотери накапливается).

На рис. 3 блок «Внешний эксперт» выполняет функцию настройки СППВР, которая состоит в задании вектора параметров модели, $a = a_{(j)}$, при котором модуль 1 генерирует вектор поток векторов $Y_{(j)}(a_{(j)}, t)$, представляющих j -е КС объекта. Обозначим его кр. j , например, представим, что значению $j = 1$ соответствует КС пациента, возникающее при кровопотере со скоростью 10 мл/мин.

Модуль 2. Нейронная сеть должна выполнять функцию оценки состояния, в том числе и КС объекта по (тестируемому) входному вектору измеренных параметров состояния объекта. Применение нейросетевых алгоритмов машинного обучения позволяет перейти от математически сложного решения обратной задачи динамических систем через многократное

интегрирование к решению простых алгебраических систем с известной структурой (весовые коэффициенты и функции активации). Входным вектором для нейронной сети является временной ряд векторов $Y(a, t)$, генерируемых модулем 1. Соответственно, на выходе сети получится временной ряд векторов вида $Z_{кр}(t_j) = (h_1(t_j), h_2(t_j), \dots, h_R(t_j))$.

Здесь переменная времени t_j изменяется в масштабе, отличном от масштаба времени t , установ-

ленного в модуле 1. Шаг дискретизации Δ времени t_j больше, чем шаг δ физиологического процесса, например кровопотери, т.е. t_j является «медленным» временем по сравнению с «быстрым» временем t .

Величины $h_1(t_j), h_2(t_j), \dots, h_R(t_j)$ – компоненты вектора $Z_{кр}(t_j)$ – представляют собой вероятности: например, $h_1(t_j)$ – есть вероятность того, что пациент находится в КС 1 во временном интервале $(t_j, t_j + \Delta)$.

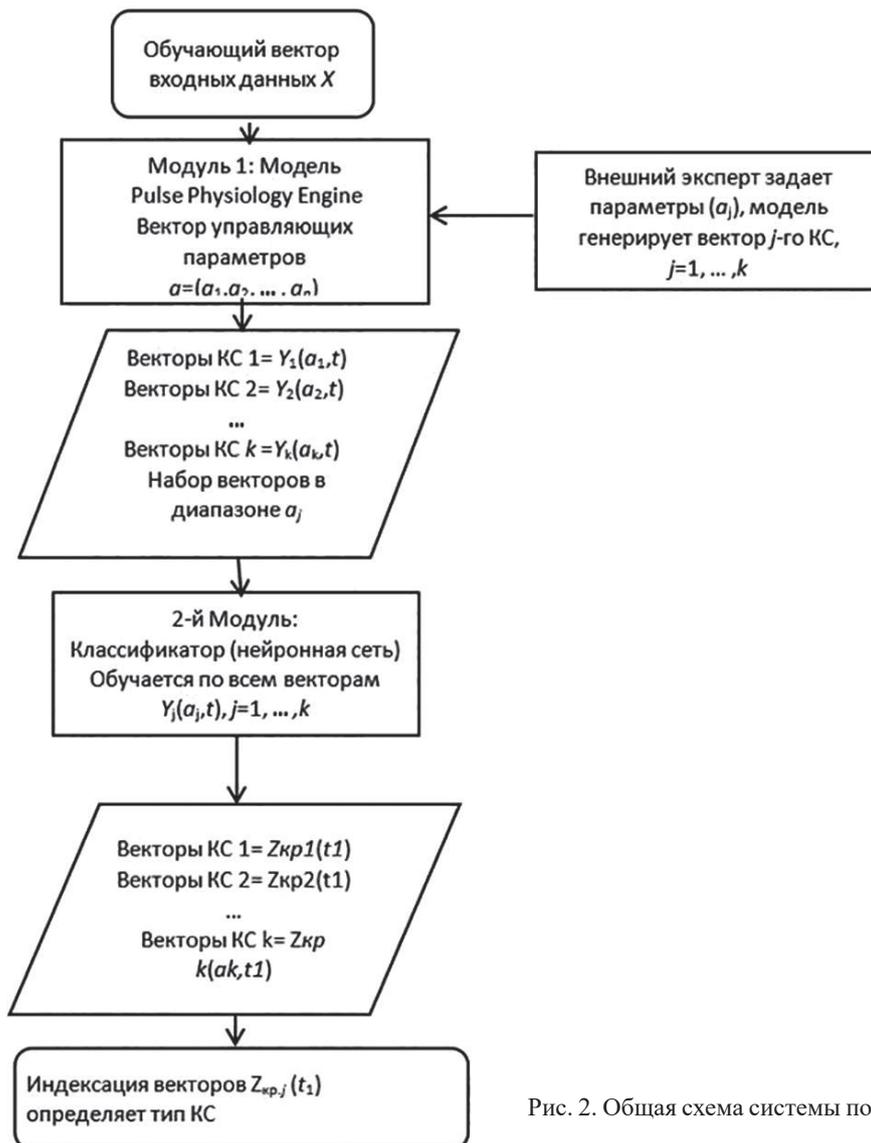


Рис. 2. Общая схема системы поддержки принятия решений

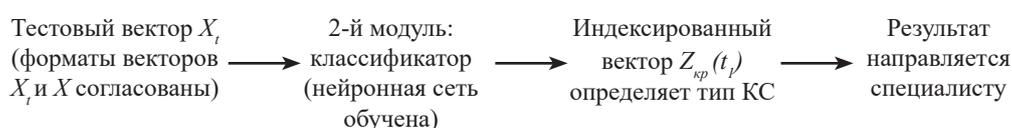


Рис. 3. Схема тестирования системы поддержки принятия решений

В результате операций нейронной сети с персонифицированной БД объекта проводится обучение нейронных сетей. По результатам работы два модуля получают алгоритмы СППВР, представляющие собой модели типа «вход – выход». На вход модели подается массив с витальными показателями, накопленными за фиксированный промежуток времени (60 с). На выходе формируются вектор с данными, содержащий информацию о состоянии объекта, и вычисленные физиологические параметры, обладающие высокой информативностью для медицинского специалиста (скорость кровопотери, объем кровопотери).

Для построения итоговой модели СППВР на основе нейросетевых алгоритмов было разработано программное приложение на языке Python. При помощи созданного на предыдущем этапе аннотированного датасета формируются несколько нейронных сетей: Long short-term memory (LSTM – сети долгой краткосрочной памяти), Autoencoder (автокодировщик), convolutional neural network (CNN – сверточная нейронная сеть). Итоговый алгоритм СППВР выполняет следующие функции: классификация состояний по данным физиологического мониторинга (ЧСС, САД, ДАД, SpO₂, ЧД, температура), восстановление массива данных при условии пропущенных значений. При условии наличия кровотечения – определение скорости кровопотери, объема кровопотери и момента начала кровотечения. Предложено несколько архитектур глубоких нейронных сетей:

1. Сеть LSTM, основная задача – классификация физиологического состояния. Тип рекуррентной нейронной сети, способный обучаться долгосрочным зависимостям. LSTM специально разработана для выявления события в динамически изменяющемся процессе.

2. Сеть Autoencoder, основная задача – восстановление массива данных при условии наличия пропусков, прогнозирование изменения траектории параметров.

3. Сеть CNN, основная задача – вычисление скорости кровопотери, объема кровопотери, момента начала кровопотери. Сверточная нейронная сеть – специализированная архитектура искусственных нейронных сетей, нацелена на эффективное распознавание образов. Разработанный алгоритм позволяет рассчитывать нейронную сеть по выборке смоделированных показателей на языке Python. При оценке качества работы смоделированной структуры получены следующие характеристики: конечная

точность по MSE: 0,992 (99,1%), конечная точность по MAE: 0,997 (98,9%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанные подходы позволяют частично решить проблему, связанную с невозможностью накопления достаточного количества медицинских данных для конкретного человека, с целью создания адекватной персонализированной модели поддержки принятия врачебных решений. Предложенный алгоритм в перспективе позволит создать аппаратное решение для оценки нуждаемости в оказании медицинской помощи при взрывной травме нижних конечностей, что особо важно на догоспитальном этапе и в условиях оказания экстренной помощи на этапах медицинской эвакуации. Важной проблемой остаются критерии оценки тяжести повреждений. Сложность включения указанных параметров в математическую модель не позволяет использовать разработанную методологию изолированно. Кроме того, для подтверждения результатов математического моделирования требуется набор клинических данных для верификации модели.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Анисин А.В., Денисов А.В., Шаповалов В.М. Оценка тяжести минно-взрывной травмы нижних конечностей. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2019;2(21):215–218. DOI: 10.17816/brmma25947.
2. Клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи пострадавшим с острой кровопотерей в чрезвычайных ситуациях. М: Всероссийский центр медицины катастроф «Защита», 2013:180.
3. Гуманенко Е.К., Бояринцев В.В., Суворов В.В., Супрун Т.Ю. Объективная оценка тяжести боевой хирургической травмы. Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011:672.
4. Гуманенко Е.К., Самохин И.М. Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011:672.
5. Указания по военно-полевой хирургии МО РФ [электронный ресурс]. URL: https://www.vmeda.org/wp-content/uploads/2016/pdf/ukazaniya_po_vph_2013.pdf
6. Пырегов А.В., Овечкин А.Ю., Петров С.В. Неинвазивный мониторинг общего гемоглобина на основе многоволновой спектроскопии в акушерстве и гинекологии. *Анестезиология и реаниматология*. 2012;6:36–39.
7. Aaron B., Webb J.B., Enquobahrie A., Vicory J., Heneghan J., Hubal R. et al. Pulse Physiology Engine: an Open-Source Software Platform for Computational Modeling of Human Medical Simulation. *SN Comprehensive Clinical Medicine*. 2019;1:362–377. DOI: 10.1007/s42399-019-00053-w.

Информация об авторах

Толмачев Иван Владиславович – канд. мед. наук, руководитель целевой поисковой лаборатории медико-инженерных технологий, Фонд перспективных исследований, СибГМУ, г. Томск, ivantolm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2888-5539>

Анисин Алексей Владимирович – начальник организационно-планового отделения научно-исследовательских (опытно-конструкторских) работ, майор медицинской службы ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, av.anisin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1526-1778>

Бала Анатолий Михайлович – канд. мед. наук, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, amsv@inbox.ru

Вражнов Денис Александрович – науч. сотрудник, целевая поисковая лаборатория медико-инженерных технологий, Фонд перспективных исследований, СибГМУ, г. Томск, denis.vrazhnov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6915-6156>

Шаповалов Александр Васильевич – д-р физ.-мат. наук, профессор, науч. сотрудник, целевая поисковая лаборатория медико-инженерных технологий, Фонд перспективных исследований, СибГМУ, г. Томск, shpv@phys.tsu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2170-1503>

Котловский Михаил Юрьевич – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, отдел научных основ организации здравоохранения, ЦНИИОиИЗ, г. Москва, m.u.kotlovskiy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1037-2567>

Лаптев Владислав Витальевич – аспирант, НИ ТПУ, г. Томск, lptwlad1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8639-8889>

Бразовский Константин Станиславович – д-р техн. наук, науч. сотрудник, целевая поисковая лаборатория медико-инженерных технологий, Фонд перспективных исследований, СибГМУ, г. Томск, bks_2005@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4779-9820>

(✉) **Толмачев Иван Владиславович**, ivantolm@mail.ru

Поступила в редакцию 05.04.2023;
одобрена после рецензирования 21.04.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Провоспалительные биомаркеры и агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца

Трубачева О.А.¹, Кологривова И.В.¹, Шнайдер О.Л.¹, Петрова И.В.², Васильев В.Н.², Ковалев И.В.², Якимович И.Ю.²

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель: определить концентрации и выявить связь биомаркеров (эндокана-1, белка, связывающего жирные кислоты, 4 (FABP 4), плацентарного фактора роста (PLGF), онкостатина М с показателями коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы. У пациентов с ИБС ($n = 51$ человек) определяли сывороточную концентрацию эндокана-1, уровень FABP 4, PLGF, онкостатина М и показатели агрегации тромбоцитов (коллаген в концентрации и 10 мкмоль/л). Пациенты разделены на группы с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов (ВОРТ) и без нее. Определялись коэффициенты корреляции между концентрациями провоспалительных биомаркеров и показателями агрегации тромбоцитов.

Результаты. У всех обследованных пациентов с ИБС вне зависимости от остаточной реактивности тромбоцитов повышена концентрация эндокана-1 и FABP 4 по сравнению с референсными значениями. У пациентов с ВОРТ концентрация эндокана-1 и PLGF значимо выше, а концентрации FABP 4 и онкостатина М ниже, чем в первой группе. У пациентов с ВОРТ выявлена корреляция между концентрацией эндокана-1 и степенью агрегации тромбоцитов в присутствии 2 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,48$; $p = 0,01$), концентрацией PLGF и степенью агрегации в присутствии 10 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,58$; $p = 0,01$), а также между концентрацией FABP 4 и размерами агрегатов при обеих концентрациях коллагена ($\rho = 0,42$; $p = 0,03$) и ($\rho = 0,70$; $p = 0,01$) и со степенью агрегации в присутствии 10 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,43$; $p = 0,01$).

Заключение. У пациентов с ВОРТ увеличено содержание факторов (эндокан-1, PLGF), способствующих росту бляшки, а у пациентов без таковой – факторов активации тромбоцитов (FABP 4, онкостатин М), что обуславливает персонализированный подход к назначению терапии для больных этих групп. У пациентов с ИБС показатели агрегации тромбоцитов ассоциированы с концентрациями провоспалительных биомаркеров, которые способствуют развитию эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: агрегация, тромбоцит, коллаген, ишемическая болезнь сердца, биомаркеры

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы НИИ кардиологии № 122020300043-1.

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

Для цитирования: Трубачева О.А., Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Петрова И.В., Васильев В.Н., Ковалев И.В., Якимович И.Ю. Провоспалительные биомаркеры и агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):130–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-130-136>.

Proinflammatory biomarkers and platelet aggregation activity in patients with coronary artery disease

Trubacheva O.A.¹, Kologrivova I.V.¹, Schnaider O.L.¹, Petrova I.V.², Vasiliev V.N.², Kovalev I.V.², Yakimovich I.Yu.²

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

² Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To determine concentrations and identify the relationship of biomarkers (endocan / cell-specific molecule-1, fatty acid binding protein 4 (FABP 4), placental growth factor (PIGF), oncostatin M), with parameters of collagen-induced platelet aggregation in patients with coronary artery disease (CAD).

Materials and methods. In patients with CAD ($n = 51$), serum levels of endocan, FABP 4, PIGF, oncostatin M, and platelet aggregation indices (collagen at concentrations of 2 and 10 mmol / l) were determined. Patients were divided into groups with and without high residual platelet reactivity (HRPR). Correlation coefficients between concentrations of proinflammatory biomarkers and platelet aggregation indices were determined in patients of both groups.

Results. In patients with HRPR, the concentrations of endocan and PIGF were significantly higher, and the concentrations of FABP4 and oncostatin M were lower than in the first group. In patients with HRPR, a correlation was found between the concentration of endocan and the degree of platelet aggregation in the presence of 2 mmol / l of collagen ($\rho = 0.48$; $p = 0.01$), between the concentration of PIGF and the degree of platelet aggregation in the presence of 10 mmol / l of collagen ($\rho = 0.58$; $p = 0.01$), as well as between the concentration of FABP 4 and the size of aggregates at both collagen concentrations ($\rho = 0.42$; $p = 0.03$) and ($\rho = 0.70$; $p = 0.01$) and the degree of platelet aggregation in the presence of 10 mmol / l of collagen ($\rho = 0.43$; $p = 0.01$).

Conclusion. In all examined CAD patients, regardless of the residual platelet reactivity, the levels of endocan and FABP 4 increased compared to the reference values. In patients with HRPR, the content of parameters (endocan, PIGF) contributing to plaque growth was elevated, and in patients without HRPR, the levels of platelet-activating factors (FABP 4, oncostatin M) were increased, which determines a personalized approach to prescribing therapy for these groups of patients. In patients with CAD, platelet aggregation indices were associated with concentrations of proinflammatory biomarkers (endocan, PIGF, and FABP 4), which contribute to the development of endothelial dysfunction.

Keywords: aggregation, platelet, collagen, coronary artery disease, biomarkers

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

Source of financing. The study was conducted within the basic research topic of Cardiology Research Institute No. 122020300043-1.

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 of Tomsk NRMC (Protocol No. 139 of 18.11.2015).

For citation: Trubacheva O.A., Kologrivova I.V., Schnaider O.L., Petrova I.V., Vasiliev V.N., Kovalev I.V., Yakimovich I.Yu. Proinflammatory biomarkers and platelet aggregation activity in patients with coronary artery disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):130–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-130-136>.

ВВЕДЕНИЕ

В России, несмотря на проводимые лечебно-профилактические мероприятия, лидирующую позицию среди сердечно-сосудистой патологии (ССП) по-прежнему занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС). Высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) на фоне приема антиагрегантных препаратов широкого спектра у пациентов ассоциируется с развитием ишемических осложнений, что доказано в многочисленных исследованиях и данных метаанализа [1–3]. Основными причинами развития ИБС является стеноз коронарных сосудов и микрососудистая эндотелиальная дисфункция [4].

Известно, что эндокан выступает в роли маркера эндотелиальной дисфункции, его высвобождение является одним из самых ранних патогенетических событий, наблюдаемых при атеросклерозе, тромбозе и хронической сердечной недостаточности [5]. Обсуждается первостепенная роль тромбоцитов в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы как модуляторов воспалительных реакций иммунного ответа, которые сегодня рассматриваются в качестве ведущего механизма развития атеросклероза. Провоспалительные цитокины способствуют экспрессии ферментов, приводящих к дестабилизации атеросклеротической бляшки (АСБ) с последующим ее разрывом [6]. После разрыва АСБ макрофаги и гладкомышечные клетки продуцируют тканевой фактор, запускающий каскад коагуляции, приводящий к тромбозу. Тромбоциты активируются вследствие их взаимодействия с коллагеном экстрацеллюлярного матрикса бляшки. Показано, что онкостатин М может способствовать развитию атеросклеротического поражения и дестабилизации сосудов [7, 8]. Довольно часто тромбоз развивается в месте гемодинамически незначимого стеноза АСБ коронарных артерий [4]. Так, развитие артериальных и венозных тромбозов ассоциировалось с увеличением содержания плацентарного фактора роста (PLGF) у пациентов с антифосфолипидным синдромом [9].

Биохимические маркеры являются важнейшим инструментом для своевременной диагностики и прогнозирования риска развития ССП [10]. Как клинические, так и экспериментальные данные показали, что белок, связывающий жирные кислоты, 4 (FABP 4) играет важную роль в развитии атеросклероза и ишемической болезни сердца, и он напрямую связан с гипертрофией левого желудочка и сердечной дисфункцией [11, 12]. Многомаркерный подход должен более точно отражать ключевые звенья патогенеза и биохимических взаимодействий по сравнению с использованием отдельных показателей. В связи с

этим наблюдается растущий интерес к разработке и использованию именно комбинаций биомаркеров.

В настоящей работе будут определены концентрации провоспалительных биомаркеров (эндокана-1, FABP 4, PLGF и онкостатина М) у пациентов с ИБС с наличием и отсутствием ВОРТ и проведена оценка их взаимосвязи с показателями коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов. Знания в данной области исследований актуальны как для клинической, так и для фундаментальной медицины.

Цель: определить концентрации и выявить связь провоспалительных биомаркеров с показателями коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное простое сравнительное исследование. В исследование включен 51 пациент с ИБС (75% из них мужчины). Набор пациентов проводился на базе НИИ кардиологии в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. В исследование включены пациенты в возрасте от 41 года до 83 лет. Все обследованные пациенты получали комбинированную базисную терапию в соответствии с рекомендациями для лечения ИБС.

Критерии включения в исследование: стабильная форма ИБС и непрерывный прием антиагрегационной терапии в течение 6 мес (кардиомагнил, 75 мг). Критерии исключения из исследования: сочетанная антиагрегантная терапия, острые сосудистые осложнения давностью менее 6 мес, тяжелая сопутствующая патология, клинические и лабораторные признаки острого воспаления, отказ от участия в исследовании.

Для получения сыворотки крови цельную периферическую кровь пациентов, стабилизированную 3,8%-м цитратом натрия, центрифугировали при скорости 3 000 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре. Полученные образцы сывороток крови хранились при -40°C . В образцах определялись концентрации провоспалительных биомаркеров: эндокана-1, FABP 4, PLGF и онкостатина М. Исследование проходило на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ методом мультиплексного иммуноанализа (FLEXMAP 3D на платформе Luminex Corporation, США) и диагностической панели Human Cardiovascular Disease Panel 1 (Merck KGaA, Darmstadt, Германия). Определение параметров коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов проводили методом Г. Борна в модификации З.А. Габасова на двухканальном лазерном анализаторе (220 LA «НПФ Биола», Россия).

Для выделения суспензии тромбоцитов кровь забирали в пробирки с 3,8%-м цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Все образцы исследовали с использованием стандартного подхода (далее – методика 1), а также собственной запатентованной методики (далее – методика 2). В первом случае индуктор агрегации коллаген вносился однократно в конечной концентрации 2 мкмоль/л на 10-й с измерения. Согласно второму подходу, параметры агрегации определялись на фоне пятикратного внесения коллагена по 2 мкмоль/л на 10-й с, 1-, 2-, 3- и 4-й мин исследования агрегации тромбоцитов с конечной концентрацией в пробе 10 мкмоль/л [3].

О степени агрегации тромбоцитов (%) судили по максимальной величине светопропускания, а о размере агрегата – по кривой среднего размера агрегатов (отн. ед.). Обследованные пациенты были разделены на две группы. В 1-ю группу ($n = 27$) вошли пациенты, у которых отсутствовала ВОРТ. Степень коллаген-индуцированной агрегации, измеренная обеими методиками, не превышала 60%, а размер агрегатов составил менее 4 отн. ед. Во 2-ю группу включили пациентов ($n = 24$), у которых степень агрегации была $\geq 60\%$, а размер агрегатов ≥ 4 отн. ед. хотя по одной из методик. Показатели определялись по обеим методикам. Согласно [3], пациенты 2-й группы соответствовали группе лиц, имеющих ВОРТ.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистических пакетов SPSS (версия 19), Statistica 10.0. Для оценки распределения количественных признаков был использован критерий Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий для двух независимых выборок оценивали

с использованием U -критерия Манна – Уитни. Для сравнения с заданным значением по одному признаку использовали t -тест Стьюдента, после применения метода преобразования данных Бокса – Кокса. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ) использовали для оценки взаимосвязи между переменными. Данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом $Me (Q_1; Q_3)$. Результаты сравнительного и корреляционного анализа считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели агрегации тромбоцитов у пациентов, отнесенных к 1-й и 2-й группе, достоверно отличались согласно [3]. Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, стажу заболевания ИБС, количеству перенесенных инфарктов миокарда и сопутствующей патологии. Медикаментозная терапия статистически значимо не различалась между группами пациентов (аспирин, антагонисты кальция, статины, диуретики, нитриты, блокаторы рецепторов к ангиотензину II, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента).

Концентрации эндокана-1 и FABP 4 в обеих группах пациентов значительно превышали максимальные референсные значения. Так, концентрация FABP 4 была увеличена по сравнению с референсными значениями в 10 раз (таблица). Концентрации эндокана-1 и PLGF были значимо повышены в группе пациентов с ВОРТ по сравнению с пациентами 1-й группы, а концентрация FABP 4 и онкостатина М, напротив, была снижена (таблица).

Таблица

Концентрации биомаркеров у пациентов с ИБС и их референсные значения				
Показатель	Группа 1, $n = 27$, $Me (Q_1; Q_3)$	Группа 2, $n = 24$, $Me (Q_1; Q_3)$	Значение p между группами	Референсные значения, C_{cp} (Мин.; Макс.)
Эндокан-1, нг/мл	2,13 ($p = 0,02$) (1,89; 2,66)	2,61 ($p = 0,01$) (2,07; 2,96)	0,03	0,94 (0,65; 1,72)
PLGF, пг/мл	4,22 (2,86; 12,19)	9,51 (5,48; 18,73)	0,01	8,72 (0,0; 39,98)
FABP4, нг/мл	68,74 ($p = 0,01$) (45,60; 75,44)	51,52 ($p = 0,01$) (25,59; 55,47)	0,02	5,34 (0,0; 11,83)
Онкостатин М, пг/мл	26,12 (5,02; 45,68)	14,93 (2,98; 28,45)	0,04	22,73 (4,07; 53,83)

Примечание. p – уровень значимости различий между группами пациентов с ИБС и в сравнении с референсным значением.

Проведенный корреляционный анализ выявил следующее. В 1-й группе обследованных (пациенты без ВОРТ) обнаружена положительной корреляционная связь между концентрацией PLGF и размером агрегатов по обеим методикам агрегации ($\rho = 0,39$; $p = 0,01$) и ($\rho = 0,62$; $p = 0,02$). Кроме того, обнаружена корреляция между концентрацией онкостатина М и степенью агрегации, определенной в присутствии 10 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,82$; $p = 0,01$).

Во 2-й группе лиц (пациенты с ВОРТ) были выявлены корреляционные связи между концентрацией

эндокана-1 и степенью агрегации, определенной в присутствии 2 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,48$; $p = 0,01$), а также между концентрацией PLGF и степенью агрегации, измеренной в присутствии 10 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,58$; $p = 0,03$). Кроме того, выявлены корреляционные связи между концентрацией FABP 4 и размером агрегатов, измеренном в присутствии двух концентраций коллагена ($\rho = 0,42$; $p = 0,04$), ($\rho = 0,70$; $p = 0,01$), а также и со степенью агрегации в присутствии 10 мкмоль/л коллагена ($\rho = 0,43$; $p = 0,01$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящая работа носила характер открытого одноцентрового одномоментного наблюдения. В проведенном исследовании установлено, что у пациентов 2-й группы с ВОРТ увеличено содержание факторов эндокана-1 и PLGF, которые могут способствовать росту атеросклеротических бляшек, а у пациентов 1-й группы без ВОРТ повышались показатели, способствующие активации тромбоцитов, FABP 4 и онкостатина М. Кроме того, мы показали, что у пациентов с ИБС уровень агрегации тромбоцитов ассоциирован с концентрацией провоспалительных биомаркеров (эндокан-1, PLGF и FABP 4), которые способствуют развитию эндотелиальной дисфункции.

В настоящей работе концентрация эндокана-1 и FABP 4 была существенно повышена у пациентов обеих групп по сравнению с референсными значениями, что свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции у пациентов с ИБС [13]. Как известно, эндотелиальная дисфункция является одним из самых ранних патогенетических событий при развитии атеросклероза, гипертонической болезни, тромбоза [14]. Повышение уровня эндокана-1, являющегося потенциальным маркером воспаления и сердечно-сосудистых заболеваний [6, 15], обнаруженное в настоящем исследовании, подтверждает эту теорию. Кроме того, выявленная корреляционная связь между концентрацией эндокана-1 и агрегацией тромбоцитов у пациентов с ВОРТ (2-я группа) свидетельствует о дисфункции эндотелия, приводящей к повышенному тромбообразованию. Продукты активации тромбоцитов способствуют высвобождению эндокана культурой эндотелиальных клеток *in vitro*, что было выражено у пациентов с трансфузионными осложнениями [5].

Десятикратное увеличение концентрации FABP 4 у пациентов обеих групп подтверждает проатерогенное и протромботическое действие этого маркера. Было показано, что FABP 4 опосредует ингибирование рецептора, который активируется пролифераторами пероксисом (PPAR)- γ [16]. Последний, в свою очередь, ингибирует активацию тромбоцитов и высвобождение из них активных медиаторов [17]. FABP 4 играет важную роль в развитии атеросклероза и ИБС и связан с гипертрофией левого желудочка и сердечной дисфункцией [11, 12]. Протромботическая роль FABP 4 в настоящем исследовании подтверждается и выявленными корреляционными взаимосвязями между его концентрацией и размером агрегатов у пациентов с ВОРТ.

В группе пациентов с ВОРТ отмечалась повышенная концентрация PLGF по сравнению с 1-й группой

пациентов. PLGF способствует неоангиогенезу при ИБС, что рассматривается как приспособительная реакция, направленная на улучшение перфузии ишемизированного миокарда за счет увеличения количества и размера артериальных коллатералей [9, 18].

В то же время в исследовании установлены корреляционные связи PLGF с параметрами агрегации тромбоцитов в обеих группах. PLGF – плацентарный фактор роста, способный стимулировать ангиогенез и индуцировать атеросклероз путем связывания и активации его мембраносвязанного рецептора, fms-подобной тирозинкиназы-1. Экспрессия PLGF при атеросклеротических поражениях активирует моноциты и макрофаги, которые впоследствии продуцируют воспалительные и ангиогенные медиаторы, что приводит к возрастающему риску разрыва бляшки. И наоборот, ингибирование PLGF уменьшает размер атеросклеротических бляшек [8]. Развитие тромбозов ассоциировано с увеличением содержания PLGF у пациентов с антифосфолипидным синдромом [9]. Взаимосвязь между тромбоцитарными параметрами и PLGF показана у женщин с преэклампсией [19], однако молекулярные механизмы, которые могут лежать в основе данной взаимосвязи, неизвестны и требуют дальнейшего изучения.

Возможно, выявленные в настоящем исследовании ассоциации значений параметров агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС 1-й группы с уровнем биомаркеров онкостатина М и PLGF доказывают модулирующее влияние тромбоцитов на воспалительную реакцию в эндотелии.

В настоящем исследовании установлена корреляция между концентрацией онкостатина М и степенью агрегации тромбоцитов в 1-й группе пациентов. Известно, что онкостатин М может способствовать развитию атеросклеротического поражения и дестабилизации сосудов [20, 21]. Кроме того, онкостатин М рассматривается как мегакариоцитарный колониеобразующий фактор, который способствует тромбоцитопозу [7]. Имеются сведения, что под воздействием онкостатина М происходит активация белка сигнального трансдуктора и активатора транскрипции STAT3, который играет важную роль в реализации коллаген-опосредованной агрегации [8].

Роль тромбоцитов в атеросклеротическом процессе и, соответственно, в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний весьма велика, так как тромбоциты в дополнение к их вкладу в тромбоз и гемостаз модулируют воспалительные реакции и иммунный ответ [22]. Одним из первых сигналов к активации тромбоцитов является коллаген – основной белок соединительной ткани, обнажающийся при повреждении сосуда. Помимо повреждения сосудов, раз-

личные провоспалительные медиаторы активируют тромбоциты [11, 21]. В проведенном исследовании выявлены множественные корреляции между показателями агрегации тромбоцитов и концентрациями сывороточных биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящем исследовании выявлено, что у пациентов обеих групп повышена концентрация эндокана-1 и FABP, что свидетельствует о воспалительном повреждении эндотелия сосудов и активации тромбоцитов. В то же время обнаружены различия в содержании некоторых биомаркеров у пациентов двух групп. Так, у пациентов без ВОРТ увеличена концентрация FABP и онкостатина M, а у пациентов с ВОРТ повышена концентрация эндокана-1 и PLGF – факторов активации тромбоцитов. На основании этого можно предположить, что в 1-й группе увеличение тромбообразования в основном связано с активацией тромбоцитов, а во 2-й группе – с ростом бляшки. Все перечисленное создает возможности для персонализированного подхода к профилактике и лечению пациентов с ИБС. В частности, антиагрегантная терапия требует определенной коррекции в группе пациентов с ВОРТ, а именно назначения дополнительных противотеросклеротических препаратов или увеличения дозы антиагрегантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что у пациентов с ишемической болезнью сердца повышена концентрация провоспалительных биомаркеров (эндокана-1 и FABP 4) по сравнению с максимальными референсными значениями. Выявлено, что у пациентов с высокой остаточной коллаген-индуцированной активностью тромбоцитов значительно увеличены концентрации эндокана-1 и фактора роста эндотелия сосудов (PLGF). Проведенное исследование выявило наличие корреляционных связей между увеличенными размерами агрегатов, степенью агрегации тромбоцитов с концентрациями провоспалительных биомаркеров (эндокан-1, PLGF и FABP 4). При этом у пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов увеличено содержание факторов эндокан-1 и PLGF, способствующих росту бляшки, а у пациентов без таковой – факторов активации тромбоцитов FABP 4 и онкостатина M, что обуславливает использование различной коррекционной терапии для пациентов этих групп.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Stone G.W., Witzencbichler B., Weisz G., Rinaldi M.J., Neumann F.-J., Metzger D.C. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013;382(9892):614–623. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61170-8.
2. Мирзаев К.Б., Андреев Д.А., Сычев Д.А. Оценка агрегации тромбоцитов в клинической практике. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2015;11(1):85–91. DOI: 10.20996/1819-6446-2015-11-1-85-91.
3. Трубачева О.А., Сулова Т.Е., Гусакова А.М., Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Завадовский К.В. и др. Высокая остаточная агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца: новый методический подход к выявлению. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):113–119. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-113-119.
4. Барбараш О.Л., Комаров А.Л., Панченко Е.П., Старовров И.И., Шахнович Р.М., Явелов И.С. Евразийские клинические рекомендации по диагностике и лечению острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST. *Евразийский кардиологический журнал*. 2021;(4):6–59. DOI: 10.38109/2225-1685-2021-4-6-59.
5. Tariket S., Sut C., Arthaud C.A., Eyraud M.A., Meneveaux A., Laradi S. et al. Modeling the effect of platelet concentrate supernatants on endothelial cells: focus on endocan/ESM-1. *Transfusion*. 2018;58(2):439–445. DOI: 10.1111/trf.14450.
6. Sviridova S.P., Somonova O.V., Kashiya Sh.R., Obukhova O.A., Sotnikov A.V. The role of platelets in inflammation and immunity. *Research 'n Practical Medicine Journal*. 2018;5(3):40–52. DOI: 10.17709/2409-2231-2018-5-3-4.
7. Wallace P.M., MacMaster J.F., Rillema J.R., Peng J., Burstein S.A., Shoyab M. Thrombocytopoietic properties of oncostatin M. *Blood*. 1995;86(4):1310–1315. DOI: 10.1182/blood.V86.4.1310.bloodjournal8641310.
8. Fossey S.L., Bear M.D., Kisseberth W.C., Pennell M., London C.A. Oncostatin M promotes STAT3 activation, VEGF production, and invasion in osteosarcoma cell lines. *BMC Cancer*. 2011;11:125. DOI: 10.1186/1471-2407-11-125.
9. Smadja D., Gaussem P., Roncal C., Fischer A.M., Emmerich J., Darnige L. Arterial and venous thrombosis is associated with different angiogenic cytokine patterns in patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2010;19(7):837–843. DOI: 10.1177/0961203309360985.
10. Sharma A., Hijazi Z., Andersson U., Al-Khatib S.M., Lopes R.D., Alexander J.H. Use of biomarkers to predict specific causes of death in patients with atrial fibrillation insights: From the ARISTOTLE trial. *Circulation*. 2018;138(16):1666–1676. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034125.
11. Liu G., Ding M., Chiuev S.E., Rimm E.B., Franks P.W., Meigs J.B. et al. Plasma levels of fatty acid-binding protein 4, retinol-binding protein 4, high-molecular-weight adiponectin, and cardiovascular mortality among men with type 2 diabetes: a 22-year prospective study. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2016;6(11):2259–2267. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308320.
12. Rodríguez-Calvo R., Girona J., Alegret J., Bosquet A., Ibarretxe D., Masana L. Role of the fatty acid-binding protein 4 in heart failure and cardiovascular disease. *Journal of Endocrinology*. 2017;233(3):173–184. DOI: 10.1530/JOE-17-0031.

13. Balta S., Balta I., Mikhailidis D. Endocan: a new marker of endothelial function. *Curr. Opin. Cardiol.* 2021;36(4):462–468. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000867.
14. Kral J.B., Schromaier W.C., Salzmann M., Assinger A. Platelet Interaction with Innate Immune Cells. *Transfus Med. Hemother.* 2016;43(2):78–88. DOI: 10.1159/000444807.
15. Абдурахманов З.М., Умаров Б.Я., Абдурахманов М.М. Современные биомаркеры эндотелиальной дисфункции при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2021;17(4):612–618. DOI: 10.20996/1819-6446-2021-08-08.
16. Trojnar M., Patro-Małyszka J., Kimber-Trojnar Ż., Leszczyńska-Gorzelak B, Mosiewicz J. Associations between fatty acid-binding protein 4—a proinflammatory adipokine and insulin resistance, gestational and type 2 diabetes mellitus. *Cells.* 2019;8(3):227. DOI: 0.3390/cells8030227.
17. Ray D.M., Spinelli S.L., O'Brien J.J., Blumberg N., Phipps R.P. Platelets as a novel target for PPARγ ligands: implications for inflammation, diabetes, and cardiovascular disease. *Bio. Drugs.* 2006;20(4):231–241. DOI: 10.2165/00063030-200620040-00004.
18. Туликов М.В., Шевченко О.П., Шевченко А.О., Гагасев А.В., Павлов В.В., Гинзбург Л.М. Плацентарный фактор роста в диагностике и прогнозировании течения ишемической болезни сердца. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова.* 2012;7(3):86–89. DOI: 10.17650/1818-8338-2012-3-4-28-32.
19. Li Y., Sun L., Zheng X., Liu J., Zheng R., Lv Y. The clinical value of platelet parameters combined with sFlt-1/PlGF in predicting preeclampsia. *Ann Palliat Med.* 2021;10(7):7619–7626. DOI:10.21037/apm-21-1244.
20. Feng Y., Ye D., Wang Z., Pan H., Lu X., Wang M. et al. The role of interleukin-6 family members in cardiovascular diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;9:818890. DOI: 10.3389/fcvm.2022.818890.
21. Huo Y., Schober A., Forlow S.B., Smith D.F., Hyman M.C., Jung S. et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein e. *Nat. Med.* 2003;9(1):61–67. DOI: 10.1038/nm810.
22. Klingenberg R., Aghlmandi S., Räber L., Gencer B., Nanchen D., Heg D. et al. Improved risk stratification of patients with acute coronary syndromes using a combination of hsTnT, NT-proBNP and hsCRP with the GRACE score. *Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care.* 2018;7(2):129–138. DOI: 10.1177/2048872616684678.

Вклад авторов

Петрова И.В., Ковалев И.В. – проверка интеллектуального содержания, утверждение рукописи к публикации. Трубачева О.А., Васильев В.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация и анализ данных, написание рукописи. Якимович И.Ю., Кологривова И.В. – обоснование рукописи. Трубачева О.А., Шнайдер О.Л. – экспериментальная часть.

Информация об авторах

Трубачева Оксана Александровна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, otrubacheva@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1253-3352>

Кологривова Ирина Вячеславовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, ikologrivova@gmail.com., <http://orcid.org/0000-0003-4537-0008>

Шнайдер Ольга Леонидовна – мл. науч. сотрудник, отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, shnaider@cardio-tomsk.ru., <http://orcid.org/0000-0003-2461-1423>

Петрова Ирина Викторовна – д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, ivpetrova57@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9034-4226>

Васильев Владимир Николаевич – д-р биол. наук, профессор, кафедра физической культуры и здоровья, СибГМУ, г. Томск, vas11@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5705-606X>

Ковалев Игорь Викторович – д-р мед. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, kovalew@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9269-0170>

Якимович Инесса Юрьевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой гигиены, СибГМУ, г. Томск, iness2501@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7485-5920>

✉ **Трубачева Оксана Александровна**, otrubacheva@inbox.ru

Поступила в редакцию 09.12.2022;
одобрена после рецензирования 02.03.2023;
принята к публикации 16.03.2023

УДК 616.127-005.8-089.81-06:616.132.2-007.272
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-137-146>

Фенотипы синдрома коронарной микрососудистой обструкции (no-reflow), развивающегося в ходе выполнения чрескожных коронарных вмешательств при инфаркте миокарда

Фролов А.А.^{1,2}, Фролов И.А.², Уланова Н.Д.², Починка И.Г.^{1,2}, Кузьмичев К.В.^{1,2}, Мухин А.С.¹, Шарабрин Е.Г.¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет (ПИМУ)
Россия, 603950, БОКС-470, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

² Городская клиническая больница (ГКБ) № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода
Россия, 603018, г. Нижний Новгород, ул. Патриотов, 51

РЕЗЮМЕ

Цель: используя метод кластеризации, определить и охарактеризовать клиничко-патогенетические фенотипы феномена коронарной микрососудистой обструкции (КМСО), возникающего при выполнении чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ).

Материалы и методы. Включены 190 больных с КМСО в ходе ЧКВ при ИМ I типа в 2013–2020. Критерии КМСО: кровотоков < 3 баллов в инфаркт-ответственной артерии (ИОА) по TIMI flow grade (TFG); перфузия < 2 баллов по Myocardial blush grade; резольюция сегмента ST < 70%. Медиана возраста – 64 [56; 70] лет, 137 (72%) мужчин, 53 (28%) женщин. ИМ с подъемом ST (ИМпST) у 170 больных (89%). Первичное ЧКВ в 127 (67%) случаях. Скончались 9 пациентов (4,7%). Фенотипирование с помощью EM (англ. excretion-maximization) алгоритма кластеризации.

Результаты. Выявлены три кластера в соотношении 56% ($n = 106$) / 27% ($n = 52$) / 17% ($n = 32$). Значение параметров, соответственно: возраст 62 [54; 67] / 73 [67; 79] / 59 [50; 65] года; женщины 8 (8%) / 39 (77%) / 6 (19%); ИМпST 102 (96%) / 43 (83%) / 25 (78%); тромболитическая терапия 46 (43%) / 6 (12%) / 11 (34%); острая сердечная недостаточность 1 [1; 2] / 2 [1; 4] / 2 [2; 2] класса; отношение тромбоцитов к лимфоцитам 110 [78; 153] / 106 [85; 132] / 132 [100; 182]; глюкоза при поступлении 8,0 [6,9; 9,6] / 11,1 [8,8; 15,2] / 7,5 [6,1; 8,1] ммоль/л; общий холестерин 4,7 [4,2; 5,4] / 5,3 [3,7; 6,2] / 5,1 [4,5; 6,2] ммоль/л; скорость клубочковой фильтрации по СКД-EPI 77 [64; 88] / 58 [46; 74] / 81 [64; 88] мл/мин/1,73м²; Syntax Score 15 [10; 21] / 20 [14; 26] / 8 [5; 10] баллов; Syntax Score в ИОА 9 [8; 15] / 12 [7; 16] / 6 [3; 7] баллов; коллатерали по Rentrop 0 [0; 1] / 0 [0; 1] / 0 [0; 0] степени; тромбоз ИОА по TIMI thrombus grade 5 [5; 5] / 5 [3; 5] / 1 [0; 2] степени; TFG 0 [0; 0] / 0 [0; 1] / 2 [2; 3] степени; аспирационная тромбэктомия 30 (28%) / 7 (13%) / 4 (13%); баллонная ангиопластика 99 (93%) / 45 (87%) / 16 (50%); диаметр ИОА 3,5 [3,0; 3,5] / 3,0 [2,8; 3,5] / 3,5 [3,0; 3,5] мм; ЧКВ двух и более артерий 0 (0%) / 4 (8%) / 3 (9). Смертельные исходы – 2 (1,9%), 7 (13,5%) и 0 (0%) пациентов соответственно ($p = 0,002$, χ^2 -Pearson).

Заключение. Определены три фенотипа. Фенотип 1: выраженный тромбоз ИОА, преимущественно мужчины, умеренное атеросклеротическое поражение. Фенотип 2: преимущественно женщины старческого возраста, высокая гипергликемия, выраженное атеросклеротическое поражение, тяжелая сердечная недостаточность, нарушенная функция почек, тромбоз ИОА. Фенотип 3: преимущественно мужчины, незначительные изменения коронарных артерий, отсутствие значимого тромбоза и сохраненный кровоток в ИОА до ЧКВ, повышенные уровни маркеров воспаления и общего холестерина.

✉ Фролов Алексей Александрович, frolov-al-al@yandex.ru

Ключевые слова: инфаркт миокарда, коронарная микрососудистая обструкция, no-reflow, чрескожное коронарное вмешательство, кластеризация, фенотипирование, клинико-патогенетические фенотипы.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках программы «Приоритет 2030».

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение исследования. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 5 от 08.04.2022).

Для цитирования: Фролов А.А., Фролов И.А., Уланова Н.Д., Починка И.Г., Кузьмичев К.В., Мухин А.С., Шарабрин Е.Г. Фенотипы синдрома коронарной микрососудистой обструкции (no-reflow), развивающегося в ходе выполнения чрескожных коронарных вмешательств при инфаркте миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):137–146. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-137-146>.

Phenotypes of coronary microvascular obstruction phenomenon (no-reflow) during percutaneous coronary interventions in myocardial infarction

Frolov A.A.^{1,2}, Frolov I.A.², Ulanova N.D.², Pochinka I.G.^{1,2}, Kuzmichev K.V.^{1,2}, Mukhin A.S.¹, Sharabrin E.G.¹

¹ Privolzhsky Research Medical University

10/1, Minin and Pozharskysq., Nizhny Novgorod, 603950, BOX-470, Russian Federation

² City Clinical Hospital No. 13 of the Nizhny Novgorod Avtozavodsky District

51, Patriotov Str., Nizhny Novgorod, 603018, Russian Federation

ABSTRACT

Objective: using the clustering method, to determine and describe the clinical and pathogenetic phenotypes of the coronary microvascular obstruction phenomenon (CMVO) that occurs during percutaneous coronary interventions (PCI) in patients with myocardial infarction (MI).

Materials and methods: the study group included 190 patients with CMVO that occurred during PCI for type 1 MI. Participants admitted in 2013–2020. CMVO criteria: blood flow < 3 points in the infarct-related artery (IRA) according to TIMI flow grade (TFG); perfusion < 2 points for Myocardial blush grade; ST segment resolution < 70%. Median age – 64 [56; 70] years, 137 (72%) men, 53 (28%) women. MI with ST elevation (STEMI) in 170 patients (89%). Primary PCI in 127 (67%) cases. Nine patients (4.7%) have died. Phenotyping was performed using the EM (expectation-maximization) clustering algorithm.

Results: three phenotypes have been identified in a ratio of 56% ($n = 106$) / 27% ($n = 52$) / 17% ($n = 32$).

The values of the parameters are respectively: age 62 [54; 67] / 73 [67; 79] / 59 [50; 65] years; women 8 (8%) / 39 (77%) / 6 (19%); STEMI 102 (96%) / 43 (83%) / 25 (78%); thrombolysis 46 (43%) / 6 (12%) / 11 (34%); acute heart failure 1 [1; 2] / 2 [1; 4] / 2 [2; 2] class; platelet to lymphocyte ratio 110 [78; 153] / 106 [85; 132] / 132 [100; 182]; glucose at admission 8,0 [6,9; 9,6] / 11,1 [8,8; 15,2] / 7,5 [6,1; 8,1] mmol/l; total cholesterol 4,7 [4,2; 5,4] / 5,3 [3,7; 6,2] / 5,1 [4,5; 6,2] mmol/l; glomerular filtration rate according to CKD-EPI 77 [64; 88] / 58 [46; 74] / 81 [64; 88] ml/min/1.73m²; Syntax Score 15 [10; 21] / 20 [14; 26] / 8 [5; 10] points; Syntax Score in IRA 9 [8; 15] / 12 [7; 16] / 6 [3; 7] points; collaterals according to Rentrop 0 [0; 1] / 0 [0; 1] / 0 [0; 0] degree; TIMI thrombus grade 5 [5; 5] / 5 [3; 5] / 1 [0; 2] degree; TFG 0 [0; 0] / 0 [0; 1] / 2 [2; 3] degree; aspiration thrombectomy 30 (28%) / 7 (13%) / 4 (13%); IRA diameter 3,5 [3,0; 3,5] / 3,0 [2,8; 3,5] / 3,5 [3,0; 3,5] mm; balloon angioplasty 99 (93%) / 45 (87%) / 16 (50%); PCI of 2 or more arteries 0 (0%) / 4 (8%) / 3 (9). Deaths – 2 (1.9%), 7 (13.5%) and 0 (0%) patients, respectively ($p = 0.002$, χ^2 -Pearson).

Conclusion. Three phenotypes have been identified. First phenotype: severe IRA thrombosis, mostly men, moderate atherosclerotic lesions. Second phenotype: mostly elderly women, high hyperglycemia, severe atherosclerotic lesions, severe AHF, impaired renal function, IRA thrombosis. Third phenotype: mostly men, minor changes in

the coronary arteries, absence of significant thrombosis and preserved blood flow in the IRA before PCI, elevated levels of inflammatory markers and total cholesterol.

Key words: No-Reflow Phenomenon, Myocardial Infarction, Percutaneous Coronary Intervention, Cluster Analysis, Classification

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

Source of financing. The study was performed within the Priority 2030 program.

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 Privolzhsky Research Medical University (Protocol No. 5 of 08.04.2022).

For citation: Frolov A.A., Frolov I.A., Ulanova N.D., Pochinka I.G., Kuzmichev K.V., Mukhin A.S., Sharabrin E.G. Phenotypes of coronary microvascular obstruction phenomenon (no-reflow) during percutaneous coronary interventions in myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):6–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-6-13>.

ВВЕДЕНИЕ

Чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) является основным методом достижения реперфузии при развитии инфаркта миокарда (ИМ). В 5–10% случаев восстановление просвета эпикардиальной инфаркт-ответственной коронарной артерии (ИОА) не приводит к адекватной перфузии миокарда вследствие развития феномена коронарной микрососудистой обструкции (КМСО, «no-reflow») [1, 2]. Развитие КМСО сопряжено с увеличением госпитальной летальности и ухудшением ближайшего и отдаленного прогноза [2].

Отметим, что если в области изучения факторов риска и прогнозирования развития КМСО накопленные в последние годы данные позволяют говорить о серьезных достижениях медицинской науки, то вопрос разработки эффективной лечебной стратегии до сих пор остается открытым. По всей видимости, это обусловлено многофакторностью патогенеза данного осложнения и клинической неоднородностью группы больных, у которых оно развивается [3]. К развитию КМСО могут приводить несколько механизмов, которые реализуются параллельно и неравномерно выражены у различных пациентов [4]. Имеющиеся данные свидетельствуют, что риск развития КМСО связан с выраженностью тромбоза ИОА, характеристиками атеросклеротической бляшки, тяжестью и объемом ИМ, системным воспалением, нарушением углеводного обмена и характеристиками реперфузии [5].

Рациональным решением проблемы эффективно-го лечения данного осложнения могло бы быть деление пациентов с КМСО на группы с последующим выделением в каждой из них ведущего патогенетического механизма и определением соответствующей терапевтической цели. В настоящее время из-

вестна только одна патогенетическая классификация КМСО, согласно которой выделяют следующие механизмы: 1) микротромбоэмболия; 2) ишемическое повреждение; 3) реперфузионное повреждение; 4) индивидуальная предрасположенность [3]. При этом стоит отметить, что данная классификация сформирована эмпирически и за все 13 лет существования на ее основе не было создано ни одного эффективного лечебного алгоритма [4]. Причиной подобной неэффективности эмпирического подхода по всей видимости является невозможность соотнести разрозненные теоретические данные о патогенезе КМСО с доступными в клинической практике маркерами.

С целью создания объективной и практически ориентированной классификации могут быть использованы математические методы, в частности различные виды кластеризации. На сегодняшний день подобные подходы к проблеме КМСО не применялись.

Цель: используя метод кластеризации, определить и охарактеризовать клинико-патогенетические фенотипы больных, развивших синдром коронарной микрососудистой обструкции (no-reflow) в ходе выполнения чрескожного коронарного вмешательства при инфаркте миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное исследование. Из 18 079 пациентов, поступивших в ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 13 Автозаводского района» города Нижнего Новгорода в 2013–2020 гг. с диагнозом «острый коронарный синдром», отобрано 7456 больных, у которых был выявлен ИМ I типа и выполнено экстренное ЧКВ. Среди больных с ИМ и ЧКВ выделено 232 (3,1%) пациента, развивших КМСО в ходе операции. Пациенты, имевшие ограничение коронарного кровотока и перфузии миокарда

по другим причинам (исходный кардиогенный шок, спазм или диссекция КА и т.д.), были отсеяны. Летальность в данной группе больных составила 13,8% (32 случая смерти в стационаре). Поскольку обязательным условием для проведения кластеризации является отсутствие пропусков в наборе данных для анализа, дополнительным критерием исключения стала невозможность получить необходимые данные в силу организационных причин и ретроспективного характера исследования (в основном из-за отсутствия определенных лабораторных тестов). Таким образом для анализа было отобрано 190 пациентов с ИМ, развивших КМСО в ходе ЧКВ и имеющих полный набор данных для анализа. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом.

Диагноз «ИМ I типа» ставился на основании клинических, электрокардиографических и биохимических показателей в соответствии с универсальным определением третьей, а затем четвертой версии [6]. Тяжесть острой сердечной недостаточности (ОСН) оценивали по классификации Killip [1].

Под ЧКВ понимали имплантацию стента в ИОА, в результате которой просвет эпикардиальной коронарной артерии (КА) был восстановлен: остаточный стеноз менее 50%; исключены диссекция, перфорация, стойкий спазм или крупный тромбоз КА. Для описания коронарного русла и характеристики результатов ЧКВ использовали следующие шкалы: 1) Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) flow grade (TFG) [3] – кровоток в ИОА до и после ЧКВ; 2) TIMI thrombus grade (TTG) [1] – выраженность тромбоза ИОА после проведения коронарного проводника; 3) Myocardial blush grade (MBG) [3] – перфузии миокарда после ЧКВ; 4) Rentrop [5] – выраженность коллатералей к ИОА; 5) Syntax Score (SS) [1] – характеристика и количественное описание выраженности атеросклеротического поражения КА (оценивался в общем и отдельно в ИОА).

Феномен КМСО регистрировался согласно критериям Европейского общества кардиологов [7]: 1) TFG менее 3 баллов; 2) MBG менее 2 баллов; 3) резолюция изменений сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ) менее 70% в течение 60–90 мин после ЧКВ.

Медиана возраста составила 64 [56; 70] года. Были включены 137 (72%) мужчин и 53 (28%) женщины. Среди 190 включенных больных коронарный анамнез был у 57 (30%), сахарный диабет у 52 (27%). С диагнозом «ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST)» поступили 170 больных (89%). При поступлении у 4 (2%) пациентов была зарегистрирована ОСН III класса, кардиогенный шок диагностирован у 17 (9%).

Медиана общего SS была равной 15 [9; 21] баллам, SS в ИОА – 9 [7; 15] баллам. Ствол левой КА

или передняя межжелудочковая артерия в роли ИОА отмечены у 81 (43%) больного. Исходный выраженный тромбоз ИОА (TTG 4–5 баллов) выявлен у 146 (77%) пациентов, окклюзия КА – у 150 (79%), неразвитые коллатерали к ИОА (0–1 степени по Rentrop) – у 170 (90%). Эктазии коронарных артерий, согласно определению P.S. Swaye [8], были диагностированы у 13 (7%) больных.

Из 190 включенных пациентов первичное ЧКВ было проведено у 127 (67%), у 63 (33%) применен фармакоинвазивный подход (ЧКВ предшествовала системная тромболитическая терапия). Время «симптом – баллон» (от начала ангинозного статуса, до восстановления коронарного кровотока в ходе ЧКВ) составило 9,7 [4,8; 16,0] ч. В 160 (84%) случаях стентирование сочеталось с баллонной ангиопластикой. У 41 (22%) пациента выполнена вакуумная аспирационная тромбэктомия, у 7 (4%) проведено одномоментное ЧКВ на нескольких КА. Медиана количества установленных стентов – 1 [1; 2] штука, длины установленных стентов – 30 [26; 51] мм, давления имплантации – 14 [12; 15] атм. Медиана диаметра ИОА – 3,5 [3,0; 3,5] мм.

С целью лечения КМСО в операционной были использованы следующие методики: интракоронарное введение изосорбида динитрата у 80 (42%) пациентов; интракоронарное введение верапамила – у 43 (23%); внутриаортальная баллонная контрпульсация – у 10 (5%); блокаторы Пв/Ша гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов – у 6 (3%).

Медианы основных лабораторных показателей при поступлении были следующими: глюкоза – 8,3 [7,0; 10,5] ммоль/л, отношение уровня тромбоцитов к лимфоцитам (PLR, англ. platelet lymphocyte ratio) – 111 [83; 149], общий холестерин – 4,9 [4,1; 5,7] ммоль/л, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по СКД-EPI – 76 [57; 86] мл/мин/1,73 м², лейкоциты – 11,3 [8,7; 14,2] 10⁹ ед./л, нейтрофилы – 5,1 [4,0; 6,6] 10⁹ ед./л, тропонин I – 0,76 [0,10; 6, 35] нг/мл.

В послеоперационном периоде резолюция изменений сегмента ST на ЭКГ была отмечена у 110 (58%) больных, Q-образующий ИМ развился у 172 (91%). Медиана фракции выброса (ФВ) левого желудочка по Simpson на момент выписки – 46 [41; 50] %. На госпитальном этапе скончались 9 пациентов (4,7%). Из 9 умерших больных в 5 случаях (56%) причиной смерти был кардиогенный шок, у 2 (22%) пациентов – механическое осложнение ИМ, отек легких стал причиной смерти у 1 (11%) больного, тромбэмболические осложнения также у 1 (11%) больного.

Для проведения кластеризации были отобраны показатели, являющиеся предикторами развития КМСО, по данным литературы [5]. Из анамнестиче-

ских и клинических показателей оценивали: возраст, пол, наличие коронарного анамнеза, поступление с диагнозом ИМпST, класс ОЧН, состояние гемодинамики, проведение системной тромболитической терапии. Из показателей характеризующих состояние КА и проведенное ЧКВ, отмечали: время «симптом – баллон», SS общий, SS в ИОА, наличие эктазии КА, локализацию поражения в стволе левой коронарной артерии или передней межжелудочковой артерии, локализацию поражения в правой коронарной артерии, коллатерали по Rentrop, диаметр ИОА, TTG, TFG, протяженность атеросклеротического поражения КА, выполнение баллонной ангиопластики (преддилатации, постдилатации) или вакуумной аспирационной тромбэктомии, количество, длину и давление имплантации стентов, одномоментное стентирование нескольких КА. Из лабораторных тестов, проведенных на момент поступления, фиксировали: уровень глюкозы крови, лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, общего холестерина (ХС), липопротеидов низкой плотности, липопротеидов высокой плотности, сердечного тропонина I; средний объем тромбоцитов, PLR, отношение нейтрофилов к лимфоцитам, СКФ. Для оценки исходов и тяжести перенесенного ИМ отмечали госпитальную летальность, развитие Q-образующего ИМ и ФВ левого желудочка.

Перед проведением кластеризации все количественные показатели были нормализованы (стандартизованы) на среднее значение и стандартное отклонение ($Mean \pm SD$) [9]. Кластеризация проводилась с помощью EM (англ. expectation-maximization) алгоритма с учетом типа распределения количественных признаков, выбор количества кластеров осуществлялся посредством перекрестной проверки (англ. V-fold cross-validation) [10].

При статистическом анализе для определения характера распределения использован критерий Колмогорова – Смирнова. Учитывая характер распределения, для оценки статистической значимости различий количественных данных использовались тесты Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Для оценки значимости различий качественных данных – χ^2 Пирсона (в том числе с поправкой Йетса), точный критерий Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. При проведении множественных сравнений применялась поправка Бонферрони (максимальное число сравниваемых групп – 3, $p < 0,018$ с учетом поправки). Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала ($Me [Q_1; Q_3]$). Кластеризация и статистическая обработка проводилась с помощью программ Statistica 12.0 (StatSoft, США) и MedCalc 11.5 (MedCalc Software, Бельгия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе выполнения кластеризации была получена модель, состоящая из трех кластеров, выделенных на основании 18 показателей (p -value для каждого параметра менее 0,05). В модель были включены: возраст, пол, тип ИМ, класс ОЧН, SS общий, SS в ИОА, коллатерали по Rentrop, диаметр ИОА, TTG, TFG, PLR, СКФ, общий ХС, уровень глюкозы крови при поступлении, проведение системной тромболитической терапии, вакуумной аспирационной тромбэктомии, баллонной ангиопластики и ЧКВ на двух и более КА. Пациенты распределились на кластеры следующим образом: кластер 1 – 106 (56%) пациентов, кластер 2 – 52 (27%), кластер 3 – 32 (17%). Стандартизированные средние значения количественных показателей в полученных кластерах представлены на рис. 1, процентные доли качественных показателей – на рис. 2. Для удобства отображения порядковые показатели преобразованы в бинарные (пороговые значения выбраны на основе клинической значимости и являющиеся общепринятыми) [5].

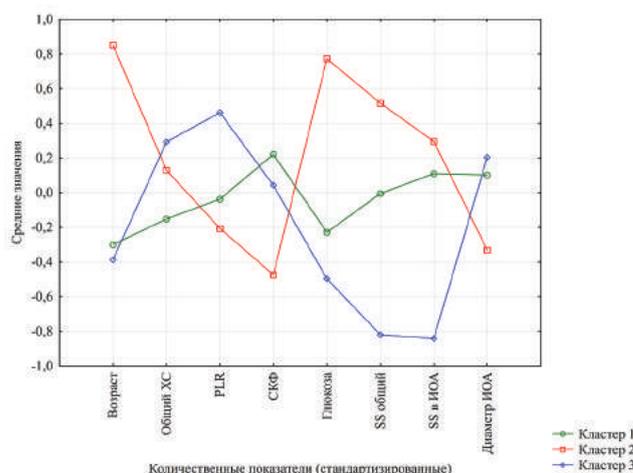


Рис. 1. Стандартизированные средние значения количественных показателей в полученных кластерах: ИОА – инфаркт-ответственная артерия, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ХС – холестерин, PLR – platelet lymphocyte ratio (отношение уровня тромбоцитов к лимфоцитам), SS – Syntax Score

В табл. представлено сравнение полученных групп по показателям, вошедшим в кластерную модель (множественное и попарное сравнение кластеров с учетом поправки на количество тестов). Кластеры статистически значимо различались по госпитальным исходам «смерть» и «ФВ левого желудочка» (рис. 3). Различий по частоте развития Q-образующего ИМ получено не было: кластер 1 – 99 (93%) пациентов, кластер 2 – 47 (90%), кластер 3 – 26 (81%), $p = 0,12$.

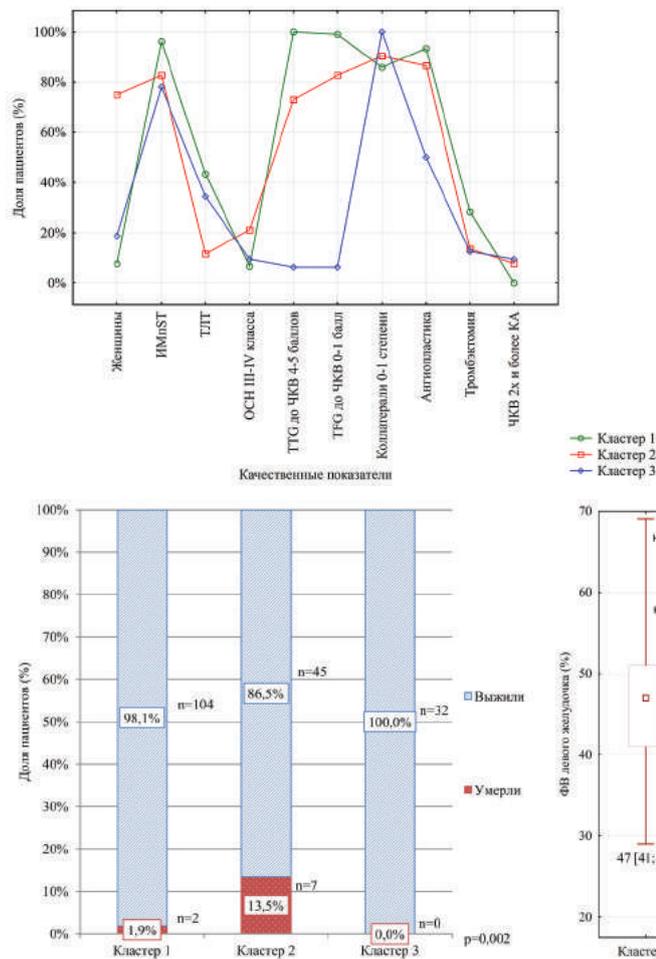


Рис. 2. Процентные доли качественных показателей в полученных кластерах: ИМnST – инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, КА – коронарная артерия, ОСН – острая сердечная недостаточность, ТЛТ – системная тромболитическая терапия, ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство, TIMI – thrombolysis in myocardial infarction, TFG – TIMI flow grade, TTG – TIMI thrombus grade

Рис. 3. Сравнение полученных кластеров по госпитальным исходам «смерть» и «ФВ левого желудочка»: Me – медиана, Q1-Q3 – квартиль, Min-Max – минимум-максимум

Таблица

Сравнение полученных групп по показателям, вошедшим в кластерную модель				
Показатель	Кластер 1, n = 106	Кластер 2, n = 52	Кластер 3, n = 32	p-value
Возраст, лет, Me [Q ₁ ; Q ₃]	62 [54; 67] ²	73 [67; 79] ^{1,3}	59 [50; 65] ²	<0,001
Женщин / мужчин, n (%)	8 (8) / 98 (92) ²	39 (75) / 13 (25) ^{1,3}	6 (19) / 26 (81) ²	<0,001
Поступление с ИМnST, n (%)	102 (96) ^{2,3}	43 (83) ¹	25 (78) ¹	0,002
Проведена системная тромболитическая терапия, n (%)	46 (43) ²	6 (12) ^{1,3}	11 (34) ²	<0,001
ОСН, класс, Me [Q ₁ ; Q ₃]	1 [1; 2] ²	2 [1; 4] ¹	2 [1; 2]	<0,001
Глюкоза крови, ммоль/л, Me [Q ₁ ; Q ₃]	8,0 [6,9; 9,6] ²	11,1 [8,8; 15,2] ^{1,3}	7,5 [6,1; 8,1] ²	<0,001
PLR, Me [Q ₁ ; Q ₃]	110 [78; 153] ³	106 [85; 132] ³	132 [100; 182] ^{1,2}	0,04
Общий холестерин, ммоль/л, Me [Q ₁ ; Q ₃]	4,7 [4,2; 5,4] ^{2,3}	5,3 [3,7; 6,2] ¹	5,1 [4,5; 6,2] ¹	0,047
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , Me [Q ₁ ; Q ₃]	77 [64; 88] ²	58 [46; 74] ^{1,3}	81 [64; 88] ²	<0,001
Syntax Score общий, баллы, Me [Q ₁ ; Q ₃]	15 [10; 21] ^{2,3}	20 [14; 26] ^{1,3}	8 [5; 10] ^{1,2}	<0,001
Syntax Score в ИОА, баллы, Me [Q ₁ ; Q ₃]	9 [8; 15] ³	12 [7; 16] ³	6 [3; 7] ^{1,2}	<0,001
Выраженность коллатералей, степень, Me [Q ₁ ; Q ₃]	0 [0; 1] ³	0 [0; 1] ³	0 [0; 0] ^{1,2}	0,01
TIMI thrombus grade, степень, Me [Q ₁ ; Q ₃]	5 [5; 5] ^{2,3}	5 [3; 5] ^{1,3}	1 [0; 2] ^{1,2}	<0,001
TIMI flow grade, степень, Me [Q ₁ ; Q ₃]	0 [0; 0] ^{2,3}	0 [0; 1] ^{1,3}	2 [2; 3] ^{1,2}	<0,001
Вакуумная аспирационная тромбэктомия, n (%)	30 (28) ^{2,3}	7 (13) ¹	4 (13) ¹	0,04
Баллонная ангиопластика, n (%)	99 (93) ³	45 (87) ³	16 (50) ^{1,2}	<0,001
Диаметр ИОА, мм, Me [Q ₁ ; Q ₃]	3,5 [3,0; 3,5] ²	3,0 [2,8; 3,5] ^{1,3}	3,5 [3,0; 3,5] ²	0,02
Проведено ЧКВ на двух и более КА, n (%)	0 (0) ^{2,3}	4 (8) ¹	3 (9) ¹	0,009

1, 2, 3 значение показателя статистически значимо (p < 0,018, с учетом поправки Бонферрони), отличается от идентичного показателя из кластера 1, 2 или 3 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью методики кластеризации является разбиение выборки на группы (кластеры) так, чтобы каждый кластер состоял из схожих объектов, а объекты разных кластеров существенно отличались друг от друга. Функцией исследователя при выполнении кластеризации является грамотный подбор входных показателей, основанный на актуальных данных об исследуемой проблеме. Поскольку кластеризация является видом машинного обучения «без учителя» («правильное» разделение заранее неизвестно), итоговая классификация, как правило, достаточно объективна и является больше продуктом математического анализа, нежели личным эмпирическим выбором [9, 10]. Итоговой задачей исследователя в этом случае становятся анализ и объяснение полученного результата.

Отметим, что в ряде ситуаций значения показателей из разных кластеров могут пересекаться, что является допустимым, поскольку для любого параметра, используемого для классификации, характерно наличие определенной доли ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Свидетельством наличия статистически значимых различий по включенным показателям между кластерами и, соответственно, корректности полученной модели является значение *p*-value для всех параметров менее 0,05. Отметим, что при кластерном анализе происходит разделение исходной выборки по совокупности многих признаков, несмотря на то что отдельные показатели между кластерами могут иметь совпадения [9, 10].

В ходе проведенного анализа была выявлена значительная неоднородность группы пациентов с КМСО и получено три кластера, имевших существенные, статистически значимые отличия (см. табл.). Первый кластер был наиболее многочисленным: 106 (56%) пациентов из 190. Он преимущественно включал относительно молодых (62 [54; 67] года) мужчин (92%) с умеренным атеросклеротическим поражением КА (SS 15 [10; 21] баллов). Из предикторов развития КМСО в данном кластере преобладали выраженный тромбоз ИОА (TTG 5 [5; 5] степени) и связанное с ним резкое снижение исходного коронарного кровотока (TFG 0 [0; 0] степени).

Ассоциацию КМСО в данной группе с интракоронарным тромбозом подтверждают наибольшая доля пациентов с ИмпСТ – 95%, *p* = 0,02 (развитие ИмпСТ, как правило, обусловлено тромботической окклюзией ИОА) [7, 11], наиболее частое применение баллонной ангиопластики – 93%, *p* < 0,001 и вакуумной аспирационной тромбэктомии – 28%, *p* = 0,04 (также объясняется исходно выраженным тром-

бозом ИОА) [7, 11]. Таким образом, разумным будет определить кластер номер один как «микротромбоэмболический» фенотип, подчеркнув тем самым наиболее вероятный элемент патогенеза – дистальную микроэмболию элементами тромба, фрагментированного в ходе ЧКВ [2, 5, 11].

Второй кластер (27% включенных пациентов) характеризовался преобладанием женщин (75%) старческого возраста (73 [67; 79] лет), имевших высокую гипергликемию (глюкоза 11,1 [8,8; 15,2] ммоль/л, сахарный диабет у 60%), выраженное атеросклеротическое поражение КА (SS 20 [14; 26] баллов), наименьший диаметр ИОА (3,0 [2,8; 3,5] мм), сниженную функцию почек (СКФ 58 [46; 74] мл/мин/1,73 м²) и поступавших с тяжелой ОШ (2 [1; 4] класс). Отметим, что пациенты данной группы также имели значительный тромбоз ИОА (TTG 5 [3; 5] степени) и сниженный коронарный кровоток (TFG 0 [0; 1] степени).

С одной стороны, очевидно, что триггером развития КМСО в данной группе также была дистальная микроэмболия элементами интракоронарного тромба в ходе выполнения ЧКВ. С другой стороны, известно, что для пациентов описанного выше профиля (особенно с сахарным диабетом) характерно наличие тяжелой персистирующей эндотелиальной дисфункции, являющейся в свою очередь предиктором развития КМСО [1, 5, 11]. По всей видимости, алгоритм кластеризации безошибочно вычленил наиболее уязвимую и тяжелую группу пациентов старческого возраста. Именно возраст являлся фактором, который во многом определял профиль данной группы: тяжелое течение ишемической болезни сердца, выраженный атеросклероз КА и коморбидность (сахарный диабет, почечная недостаточность) [1, 5, 11]. В связи с этим данный кластер следует обозначить как «возраст-ассоциированный» фенотип. Отметим, что редкое применение тромболитической терапии среди пациентов данного кластера (12%, *p* < 0,001), по всей видимости, также было обусловлено старческим возрастом и связанным с ним геморрагическим риском.

Третий кластер (17% исследуемых больных) был в основном представлен относительно молодыми (59 [50; 65] лет) мужчинами (81%) с незначительным атеросклеротическим поражением коронарных артерий (SS 8 [5; 10] баллов), практически без интракоронарного тромбоза (TTG 1 [0; 2] степени), сохраненным кровотоком (TFG 2 [2; 3] степени) по ИОА и неразвитыми коронарными коллатеральными (0 [0; 0] степень). При этом в данной группе было достаточно высокое значение общего ХС (5,1 [4,5; 6,2] ммоль/л) и наибольшее значение PLR (132 [100; 182]) – показателя, отражающего выраженность воспаления и

являющегося чувствительным предиктором развития КМСО [12].

Отсутствие значительного тромбоза ИОА в сочетании с наличием дислипидемии и выраженного воспалительного фона позволяет предположить, что развитие КМСО у пациентов данной группы было вызвано деструкцией крупной, богатой липидами атеросклеротической бляшки с последующей микроэмболией дистального русла ее элементами [1, 5, 11]. Связь между риском развития КМСО и липидной структурой бляшки, оцененной с помощью современных методов внутрисосудистой визуализации, продемонстрирована во многих работах последних лет [14, 15]. Причиной разрушения и фрагментации бляшки служило интенсивное механическое воздействие на нее в ходе ЧКВ [11], о чем свидетельствует наиболее частое применение многососудистого стентирования (9%, $p = 0,009$) в обсуждаемой группе.

Воспаление же, по всей видимости, вносило вклад в развитие и дестабилизацию атеромы [13, 16], а также являлось компонентом патогенетического каскада, усугублявшего обструкцию микрососудистого русла и потенцировавшего развитие КМСО [17]. Учитывая вышесказанное, справедливо охарактеризовать данный кластер как «атероэмболический» фенотип.

Проведенный выше анализ данных и актуальной литературы позволяет утверждать, что описанные кластеры можно рассматривать как клинико-патогенетические фенотипы КМСО при ИМ. Подчеркнем, что озвученные названия фенотипов предложены нами для упрощения восприятия. Данные названия носят описательный характер и отражают ведущий, но не во всех случаях единственный фактор развития КМСО в фенотипе. С целью упрощения отнесения пациента с КМСО к конкретному фенотипу мы предлагаем использовать алгоритм, представленный на рис. 4.

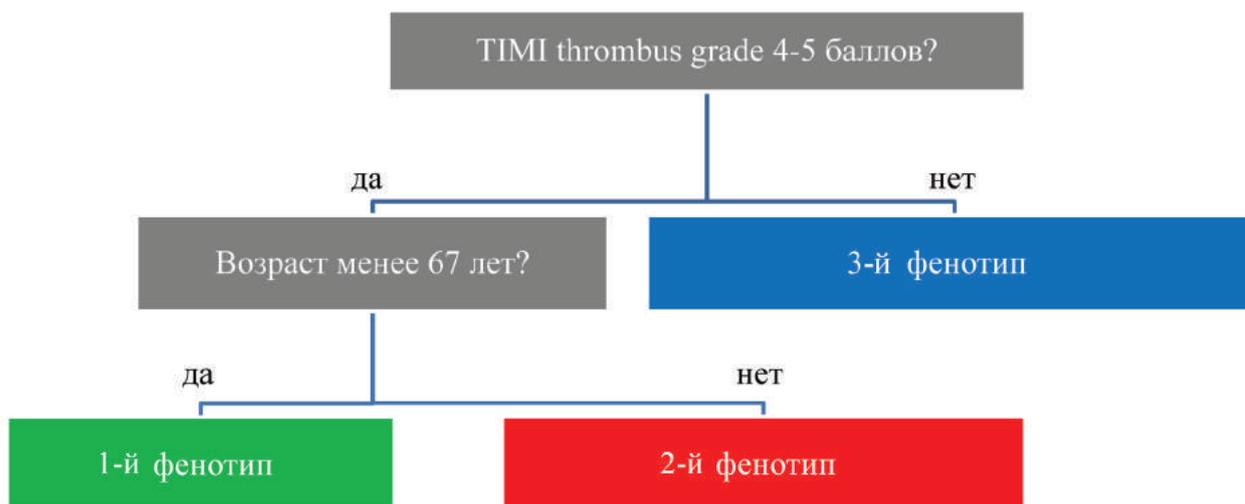


Рис. 4. Алгоритм отнесения пациента с коронарной микрососудистой обструкцией к конкретному фенотипу

Обращает на себя внимание тот факт, что все найденные фенотипы в основном были связаны с различными вариантами дистальной микроэмболии, произошедшей после выполнения ЧКВ. При этом в кластерную модель не был включен такой важный предиктор КМСО, как время «симптом – баллон», хотя известно, что задержка реперфузии ассоциирована с тяжелым ишемическим повреждением [5, 11]. Это можно объяснить тем, что показатель времени больше ассоциирован с транспортировкой и логистикой. Задержка реперфузии однозначно усугубляет ишемическое повреждение и вносит вклад в формирование КМСО, но при этом не связана с клиническим профилем пациента [1, 4].

Найденные фенотипы различались между собой по тяжести госпитальных исходов. Наихудший про-

гноз среди пациентов второго фенотипа (госпитальная летальность 13,5%, $p = 0,002$; ФВ при выписке 42 [38; 48] %, $p = 0,01$; порог поправки Бонферрони – 0,018) был обусловлен тяжелым течением ИМ, старческим возрастом, выраженным атеросклеротическим поражением КА, частым наличием ОШН и коморбидностью.

Полученные данные позволяют наметить потенциальные цели для таргетированной профилактики и лечения КМСО. В случае «микротромбоэмболического» фенотипа наиболее эффективными могут быть методики, направленные на элиминацию интракоронарного тромба: вакуумная аспирационная тромбэктомия и применение блокаторов П₂/П₃а гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов [1, 3]. При развитии КМСО по «возраст-ассоциированному»

типу, кроме борьбы с интракоронарным тромбозом, эффективными могут быть периоперационная коррекция гипергликемии, своевременное распознавание начинающегося кардиогенного шока и применение методов механической поддержки кровообращения [4, 18]. У пациентов, соответствующих «атероземболическому» фенотипу, целесообразно применять концепцию «минимально инвазивного вмешательства»: выполнение ЧКВ только на ИОА, проведение постдилатации стента только в случае необходимости, имплантация стента на умеренном давлении, применение тактики отсроченного стентирования у избранных пациентов [4, 19]. Также у больных данной группы могут быть эффективными раннее применение высоких доз статинов и противовоспалительных препаратов [1, 20]. Алгоритм подобного селективного подхода еще предстоит разработать и проверить в проспективном исследовании.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представленное исследование имеет ряд ограничений, которые в основном связаны с ретроспективным характером проведенной работы. Вероятно, вследствие ретроспективного включения больных по данным внутрибольничной базы данных с последующей верификацией КМСО посредством ангиографии и анализа ЭКГ некоторые пациенты с умеренно выраженной КМСО не были включены (так как факт КМСО не фиксировался в первичной документации). Второе ограничение заключалось в том, что некоторые лабораторные тесты, ассоциированные с КМСО, не забирались в 1-е сут госпитализации. Поскольку методика кластеризации требует отсутствия пропусков данных, из работы пришлось исключить ряд пациентов с КМСО, не имевших необходимых тестов. Еще одним фактором, который мог повлиять на госпитальные исходы в исследуемой группе больных, было редкое применение блокаторов Пб/Ша гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов.

ВЫВОДЫ

В результате кластеризации определены три фенотипа КМСО. Первый фенотип ассоциирован с выраженным тромбозом ИОА и включает преимущественно мужчин с умеренным атеросклеротическим поражением. Второй характеризуется преобладанием женщин старческого возраста с высокой гипергликемией, выраженным атеросклеротическим поражением, тяжелой ОН, нарушенной функцией почек, также имеющих тромбоз ИОА. Третий представлен в основном мужчинами с незначительными изменениями коронарных артерий, отсутствием значимого тромбоза и сохраненным кровотоком в ИОА

до ЧКВ, но имеющих повышенный уровень маркеров воспаления и общего холестерина. Наибольшая летальность и снижение ФВ были отмечены среди пациентов, отнесенных ко второму фенотипу.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ciofani J.L., Allahwala U.K., Scarsini R., Ekmejian A., Banning A.P., Bhindi R. et al. No-reflow phenomenon in ST-segment elevation myocardial infarction: still the Achilles' heel of the interventionalist. *Fut. Cardiol.* 2021;17(2):383–397. DOI: 10.2217/fca-2020-0077.
2. Konijnenberg L.S.F., Damman P., Duncker D.J., Kloner R.A., Nijveldt R., van Geuns R.M. et al. Pathophysiology and diagnosis of coronary microvascular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2020;116(4):787–805. DOI: 10.1093/cvr/cvz301.
3. Kaur G., Baghdasaryan P., Natarajan B., Sethi P., Mukherjee A., Varadarajan P. et al. Pathophysiology, diagnosis, and management of coronary no-reflow phenomenon. *Int. J. Angiol.* 2021;30(1):15–21. DOI: 10.1055/s-0041-1725979.
4. Niccoli G., Montone R.A., Ibanez B., Thiele H., Crea F., Heusch G. et al. Optimized treatment of ST-elevation myocardial infarction. *Circ. Res.* 2019;125(2):245–258. DOI: 10.1161/circresaha.119.315344.
5. Fajar J.K., Heriansyah T., Rohman M.S. The predictors of no reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in patients with ST elevation myocardial infarction: A meta-analysis. *Indian Heart J.* 2018;70(3):S406–S418. DOI: 10.1016/j.ihj.2018.01.032.
6. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A. et al. Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Glob. Heart.* 2018;13(4):305–338. DOI: 10.1016/j.ghheart.2018.08.004.
7. Ibanez B., James S., Agewall S., Antunes M.J., Bucciarelli-Ducci C., Bueno H. et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2018;39(2):119–177. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx393.
8. Almegbel M.M., Almutairi F.Q. Coronary Artery Ectasia with Acute Myocardial Infarction, A Case Report. *J. Saudi Heart Assoc.* 2020;32(2):336–339. DOI: 10.37616/2212-5043.1114.
9. Alasadi S.A., Bhaya W.S. Review of data preprocessing techniques in data mining. *J. Eng. Appl. Sci.* 2017;12(16):4102–4107. DOI: 10.36478/jeasci.2017.4102.4107.
10. Esteva A., Robicquet A., Ramsundar B., Kuleshov V., DePristo M., Chou K. et al. A guide to deep learning in healthcare. *Nat. Med.* 2019;25(1):24–29. DOI: 10.1038/s41591-018-0316-z.
11. Sabin P., Koshy A.G., Gupta P.N., Sanjai P.V., Sivaprasad K., Velappan P. et al. Predictors of no-reflow during primary angioplasty for acute myocardial infarction, from Medical College Hospital, Trivandrum. *Indian Heart J.* 2017;69(1):S34–S45. DOI: 10.1016/j.ihj.2016.12.012.
12. Kurtul A., Ornek E. Platelet to Lymphocyte Ratio in Cardiovascular Diseases: A Systematic Review. *Angiology.* 2019;70(9):802–818. DOI: 10.1177/0003319719845186.

13. Libby P. Inflammation during the life cycle of the atherosclerotic plaque. *Cardiovasc. Res.* 2021;117(13):2525–2536. DOI: 10.1093/cvr/cvab303.
14. Lim S., Cha J.J., Hong S.J., Kim J.H., Joo H.J., Park J.H. et al. Association between high lipid burden of target lesion and slow TIMI flow in coronary interventions. *J. Clin. Med.* 2022;11(18):5401. DOI: 10.3390/jcm11185401.
15. Soeda T., Higuma T., Abe N., Yamada M., Yokoyama H., Shibutani S. et al. Morphological predictors for no reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction caused by plaque rupture. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2017;18(1):103–110. DOI: 10.1093/ehjci/jev341.
16. Back M., Yurdagul A.J., Tabas I., Oorni K., Kovanen P.T. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Cardiol.* 2019;16(7):389–406. DOI: 10.1038/s41569-019-0169-2.
17. Katayama Y., Taruya A., Kashiwagi M., Ozaki Y., Shiono Y., Tanimoto T. et al. No-reflow phenomenon and in vivo cholesterol crystals combined with lipid core in acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2022;38:100953. DOI: 10.1016/j.ijcha.2022.100953.
18. Karathanos A., Lin Y., Dannenberg L., Parco C., Schulze V., Brockmeyer M. et al. Routine Glycoprotein IIb/IIIa Inhibitor Therapy in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: A Meta-analysis. *Can. J. Cardiol.* 2019;35(11):1576–1588. DOI: 10.1016/j.cjca.2019.05.003.1
19. Karamasis G.V., Kalogeropoulos A.S., Gamma R.A., Clesham G.J., Marco V., Tang K.H. et al. Effects of stent postdilatation during primary PCI for STEMI: Insights from coronary physiology and optical coherence tomography. *Catheterization and Cardiovascular Interventions.* 2021;97(7):1309–1317. DOI: 10.1002/ccd.28932.
20. Kumar J., O'Connor C.T., Kumar R., Arnous S.K., Kiernan T.J. Coronary no-reflow in the modern era: a review of advances in diagnostic techniques and contemporary management. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2019;17(8):605–623. DOI: 10.1080/14779072.2019.1653187.

Вклад авторов

Фролов А.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Фролов И.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Уланова Н.Д., Кузьмичев К.В. – анализ и интерпретация данных. Починка И.Г. – анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Мухин А.С., Шарабрин Е.Г. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Фролов Алексей Александрович – канд. мед наук, ассистент, кафедра госпитальной хирургии им. Б.А. Королева, ПИМУ; врач, отделение рентгенохирургических методов диагностики и лечения, ГКБ № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода, г. Нижний Новгород, frolov-al-al@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7228-7563>

Фролов Игорь Александрович – врач, отделение рентгенохирургических методов диагностики и лечения, ГКБ № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода, г. Нижний Новгород, dr.iafrolov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2955-304X>

Уланова Нина Дмитриевна – врач, приемное отделение, ГКБ № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода, г. Нижний Новгород, ulanova.nina.1996@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5107-6051>

Починка Илья Григорьевич – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой эндокринологии и внутренних болезней, ПИМУ; зав. кардиологическим отделением, ГКБ № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода, г. Нижний Новгород, pochinka4@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5709-0703>

Кузьмичев Кирилл Владимирович – ассистент, кафедра эндокринологии и внутренних болезней, ПИМУ; врач, приемное отделение, ГКБ № 13 Автозаводского района Нижнего Новгорода, г. Нижний Новгород, kir2010k@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1513-0313>

Мухин Алексей Станиславович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии им. Б.А. Королева, ПИМУ, г. Нижний Новгород, prof.mukhin@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2336-8900>

Шарабрин Евгений Георгиевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра рентгеноэндovasкулярной диагностики и лечения ФДПО, ПИМУ, г. Нижний Новгород, sharabrin@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5326-7233>

(✉) **Фролов Алексей Александрович**, frolov-al-al@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.11.2022;
одобрена после рецензирования 03.03.2023;
принята к публикации 16.03.2023

УДК 615.33.065(470+571)
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-147-155>



Прием антибактериальных препаратов без назначения врача в Российской Федерации

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

Введение. Антибиотикорезистентность – глобальная угроза, приводящая к неэффективности лечения многих инфекционных заболеваний, причиной роста которой является ненадлежащее исполнение требований законодательства, а именно безрецептурная продажа антибиотиков.

Цель исследования. Установить источники назначения антибактериальных препаратов, распространенность самолечения и факторы, его обуславливающие.

Материалы и методы. В настоящей работе применялся метод онлайн-опроса (CAWI) с использованием анкеты, состоявшей из шести блоков и 41 вопроса. Статистический анализ данных проведен с использованием программ Statistica for Windows version 10.0 и R-studio.

Результаты. В исследовании приняли участие 2 725 человек. Только 50,9% респондентов приобретали (получали) антибактериальные препараты по рецепту врача. Параметрами, ассоциированными с приемом антибиотиков без назначения врача, являлись женский пол (отношение шансов (ОШ) = 1,4; 95%-й доверительный интервал (ДИ): 1,2–1,7), отсутствие высшего образования (ОШ = 1,6; 95%-й ДИ: 1,3–1,9), наличие медицинского образования (ОШ = 1,7; 95%-й ДИ: 1,2–2,5), отсутствие информации о запрете продажи антибиотиков без рецепта врача (ОШ = 1,6; 95%-й ДИ: 1,3–1,9) и применение знаний членов семьи или знакомых как основных источников информации о рациональном приеме антибактериальных препаратов (ОШ = 2,2; 95%-й ДИ: 1,7–2,9).

Заключение. Приоритетными направлениями по сдерживанию антибиотикорезистентности могут стать пропаганда и строгий контроль запрета продажи антибиотиков без рецепта врача. Кроме того, необходимо периодически актуализировать знания медицинских работников об антибактериальных препаратах и антибиотикорезистентности, в том числе для повышения настороженности специалистов сферы здравоохранения к развитию антибиотикорезистентности как у пациентов, так и самих работников.

Ключевые слова: антибиотики, антибактериальные препараты, прием без назначения врача, антибиотикорезистентность, самолечение

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.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом по экспертизе социологических исследований в сфере общественного здравоохранения при ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России (заключение № 11/2022 от 07.10.2022).

Для цитирования: Чигрина В.П., Тюфилин Д.С., Деев И.А., Кобякова О.С. Прием антибактериальных препаратов без назначения врача в Российской Федерации. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):147–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-147-155>.

✉ Чигрина Валерия Петровна, chigrinavp@mednet.ru

Taking antibacterial drugs without a doctor's prescription in the russian federation

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

Background. Antibiotic resistance is a global threat leading to ineffective treatment of many infectious diseases. One of the factors contributing to an increase in antibiotic resistance is over-the-counter sale of antibiotics.

The aim of this study was to establish the sources of antibiotic prescription and to determine the prevalence of self-medication and factors that cause it.

Materials and methods. The computer-assisted web interview (CAWI) methodology was used in the study. The questionnaire consisted of six blocks and 41 questions. For statistical analysis of the study results, Statistica for Windows version 10.0 and R-Studio software programs were used.

Results. The study involved 2,725 people. Only 50.9% of the respondents purchased antibiotics with a prescription or got them during hospitalization. Parameters associated with over-the-counter purchase of antibiotics included female gender (odds ratio (OR) = 1.4; 95% confidence interval (CI): 1.2–1.7), lack of higher education (OR = 1.6; 95% CI: 1.3–1.9), medical education (OR = 1.7; 95% CI: 1.2–2.5), lack of awareness of a ban on over-the-counter sale of antibiotics (OR = 1.6; 95% CI: 1.3–1.9), and relying on the knowledge (opinion) of family members or acquaintances as the main sources of information about the correct use of antibiotics (OR = 2.2; 95% CI: 1.7–2.9).

Conclusion. Antibiotic resistance can be reduced by propaganda and strict control over a ban on over-the-counter sale of antibiotics. It is also essential to update knowledge of medical professionals about antibacterial drugs and antibiotic resistance on a regular basis, also through raising their awareness of the development of antibiotic resistance in both patients and medical workers.

Keywords: antibiotics, antibacterial drugs, taking antibiotics without a doctor's prescription, antibiotic resistance, self-medication

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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 on expert evaluation of social surveys in public health at Russian Research Institute of Health (Protocol No. 11/2022 of 07.10.2022).

For citation: Chigrina V.P., Tyufilin D.S., Deev I.A., Kobayakova O.S. Taking antibacterial drugs without a doctor's prescription in the russian federation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):147–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-147-155>.

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотикорезистентность представляет собой глобальную угрозу, приводящую к неэффективности лечения многих инфекционных заболеваний, а также увеличению продолжительности пребывания пациентов в стационаре, стоимости лечения, заболеваемости и смертности населения [1, 2]. В Российской Федерации проблема антибиотикорезистентности также актуальна, по данным О.Ю. Куцеваловой и соавт. (2019), резистентность к карбапенемам имеют 90,9% штаммов *A. baumannii* и более 50% *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* [3]. Со-

гласно В.В. Рафальскому и соавт. (2018), определяется стабильно высокая резистентность штаммов *E. coli* к ампициллину (33,1–41,5%) и ко-тримоксазолу (19,3–26,2%) [4].

Существует несколько причин роста антибиотикорезистентности, одной из которых является ненадлежащее исполнение требований законодательства в части безрецептурной продажи антибиотиков, что, по данным зарубежных исследователей, наблюдается в 51% случаев [5–7]. Следствием этого становится чрезмерное использование антибактериальных препаратов, в том числе самолечение, которое в ряде стран, особенно с низким и средним уровнем дохода,

варьирует от 1 до 70% [8, 9]. В Юго-Восточной Азии данный показатель достигает 50%, Южной Америке – 78%, Италии – 32,3%, Танзании – 58% [10–13].

В Российской Федерации одной из мер предупреждения распространения антимикробной резистентности стало введение в 2017 г. рецептурной продажи антибактериальных препаратов, а также строгий контроль за этим¹. Однако в текущей практике отпуск антибиотиков не всегда соблюдается в строгом соответствии с указанными требованиями. Так, по результатам исследования Т.М. Климовой и соавт. (2017) с участием 358 респондентов, 73,4% из них принимали антибиотики без назначения врача [14].

С целью более глубокого понимания источников назначения, распространенности самолечения антибактериальными препаратами и факторов, их обуславливающих, проведено одномоментное наблюдательное исследование на репрезентативной выборке для Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящей работе использовался метод анкетирования с применением разработанного опросника, состоявшего из шести блоков и 41 вопроса: общая характеристика респондентов, частота и особенности приема антибиотиков, назначение и покупка, корректность (рациональность) приема, знания населения и источники информации об антибактериальных препаратах и антибиотикорезистентности. Валидация опросника проводилась с использованием метода фокус-групп ($n = 10$ человек).

Статистический анализ данных проведен с использованием программ Statistica for Windows version 10.0 и R-studio. Качественные данные представлены в виде абсолютных и относительных частот, количественные – в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$).

Распределение изучаемых признаков проверялось с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для оценки достоверности различий между двумя независимыми группами при ненормальном распределении признака использовался критерий Манна – Уитни, при нормальном – t-критерий Стьюдента. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки связи между определенным исходом и его предикторами в бинарных группах использовалось отношение шансов (ОШ). Для определения вероятности наступления определенного события построена модель логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В опросе приняли участие 2 725 человек из всех субъектов Российской Федерации (45,6% мужчин, $n = 1 242$; 54,4% женщин, $n = 1 483$). Средний возраст участников составлял 42,4 года ($\pm 14,4$ лет). Более 25% были в возрасте от 25 до 34 лет ($n = 683$), 22,7% от 35 до 44 лет (22,7%, $n = 619$).

В рамках исследования респондентам был задан стандартный вопрос определения покупательной способности «Как Вы оцениваете свое финансовое положение?» В соответствии с ответами большая часть (44,1%, $n = 1 200$) относилась к группе среднего финансового положения и 36,5% ($n = 995$) – выше среднего.

Подробная социально-демографическая характеристика участников исследования представлена на рис. 1–3.



Рис. 1. Социально-профессиональные категории респондентов, %



Рис. 2. Уровень образования респондентов, %

¹ Распоряжение Правительства Российской Федерации (2017) О Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 года» № 2045-р от 25.09.2017.



Рис. 3. Финансовое положение респондентов, %

НАЗНАЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

По результатам проведенного исследования, треть участников (32,2%, $n = 479$) из числа тех, кто принимал антибактериальные препараты в течение

последних 12 мес, делали это без назначения врача. Более трети из них (34,0%, $n = 163$) принимали решение о начале приема антибиотиков самостоятельно, 33,2% – по совету знакомых медицинских работников ($n = 159$), 31,5% – по совету членов семьи ($n = 151$) (рис. 4).

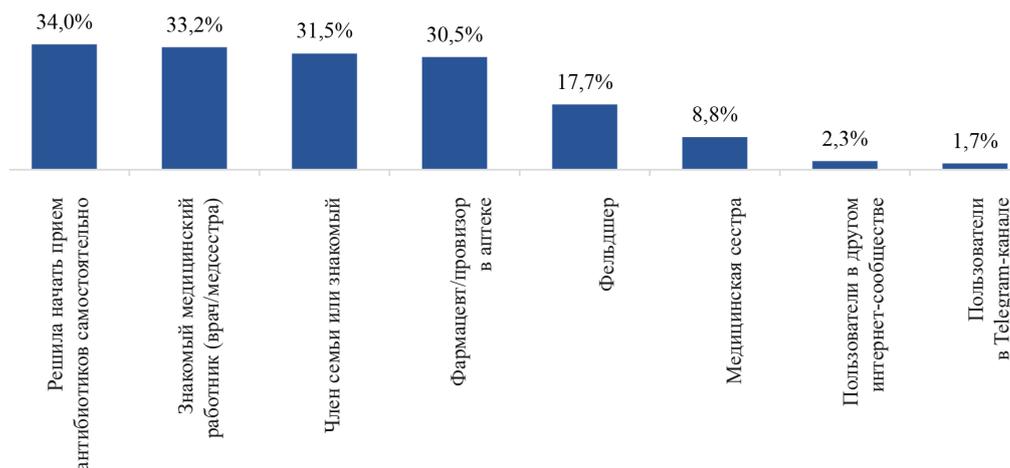


Рис. 4. Источники назначения антибактериальных препаратов помимо врача

Среди участников с высшим образованием наблюдалась большая доля лиц, принимавших антибактериальные препараты по назначению врача (73,0%, $n = 514$), а среди лиц со средним специальным или техническим образованием – наименьший (63,6%,

$n = 330$; $p = 0,004$). Однако по результатам анализа социально-профессиональные группы и финансовое положение респондентов не оказали значимого влияния на прием антибактериальных препаратов по назначению врача ($p > 0,05$ для всех сравнений) (рис. 5).

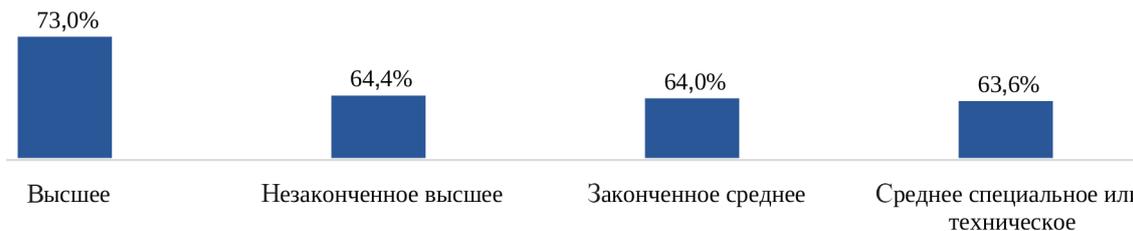


Рис. 5. Доля респондентов, принимавших антибиотики по назначению врача, в зависимости от уровня образования: $p = 0,004$ при сравнении респондентов, имевших высшее и среднее образование

Параметрами, ассоциированными с более частым приемом антибиотиков без назначения врача, являлись женский пол (отношение шансов (ОШ) = 1,4; 95%-й доверительный интервал (ДИ): 1,2–1,7), отсутствие высшего образования (ОШ = 1,6; 95%-й ДИ: 1,3–1,9), наличие медицинского образования (ОШ = 1,7; 95%-й ДИ: 1,2–2,5), незнание о запрете продажи антибиотиков без рецепта врача (ОШ = 1,6; 95%-й ДИ: 1,3–1,9) и применение знаний членов семьи или знакомых в качестве главных источников информации о рациональном приеме антибактериальных препаратов (ОШ = 2,2; 95%-й ДИ: 1,7–2,9) (табл. 1).

Таблица 1

Параметры, ассоциированные с приемом антибактериальных препаратов не по назначению врача	
Параметр	ОШ (95%-й ДИ)
Женский пол	1,4 (1,2–1,7)
Отсутствие высшего образования	1,6 (1,3–1,9)
Наличие медицинского образования	1,7 (1,2–2,5)
Отсутствие информации о запрете продажи антибактериальных препаратов без рецепта врача	1,6 (1,3–1,9)
Основной источник информации о рациональном приеме антибактериальных препаратов – знания (мнения) членов семьи или знакомых	2,2 (1,7–2,9)



Рис. 6. Преимущественные источники приобретения (получения) антибиотиков респондентами помимо врача

В возрастной группе 18–24 года (7,8%) и среди студентов (20,6%) была статистически значимо большая доля тех, кто получал антибактериальные

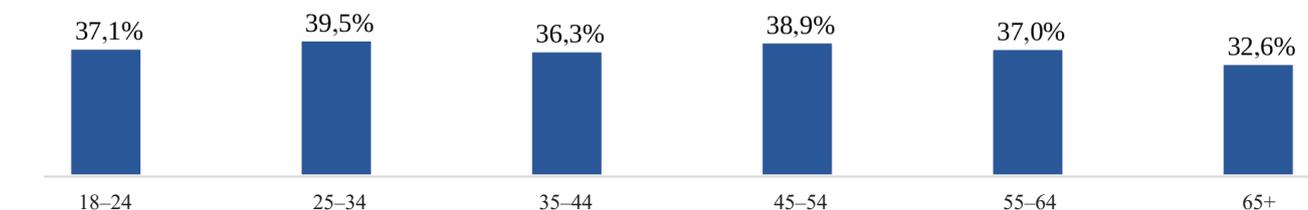
ИСТОЧНИКИ ПРИОБРЕТЕНИЯ (ПОЛУЧЕНИЯ) АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Почти половина участников (49,1%, $n = 732$) из числа тех, кто принимал антибиотики в течение последних 12 мес, приобретали указанные препараты без рецепта врача. Из них подавляющее большинство (86,3%, $n = 632$) покупали противомикробные препараты в аптеке без рецепта врача, а пятая часть (22,8%, $n = 167$) принимали препараты, оставшиеся с предыдущего эпизода лечения (рис. 6).

Статистически значимо меньшая доля респондентов, покупавших антибиотики по рецепту врача, отмечалась среди самозанятых (31,4%, $n = 38$; $p < 0,05$). Во время госпитализации меньше остальных получали антибактериальные препараты студенты и лица с крайне низким финансовым положением (19,1%, $n = 13$ и 3,8%, $n = 1$ соответственно; $p < 0,01$).

Кроме того, наибольшая доля респондентов, покупавших антибактериальные препараты в аптеке без рецепта врача, зарегистрирована среди группы 25–34 года (28,1%), самозанятых (50,4%) и лиц с низким финансовым положением (53,8%); меньшая – в возрастной группе 18–24 года (13,3%), среди студентов (26,5%) и лиц с высоким финансовым положением (18,9%).

препараты от членов семьи или знакомых, а среди возрастной группы 55–64 года (1,3%) и предпринимателей (0,0%) – меньшая (рис. 7).

Рис. 7. Доля респондентов, принимавших антибиотики по назначению врача, в зависимости от возрастной группы, %: $p = 0,04$ при сравнении возрастной группы от 25 до 34 и группы старше 65 лет

Также отмечено, что участники, имевшие крайнее низкое финансовое положение, чаще остальных покупали антибактериальные препараты в аптеке

без рецепта врача (53,8%, $n = 14$) и в интернет-аптеках (23,1%, $n = 6$). Уровень образования не оказывал значимого влияния на выбор конкретного

источника приобретения (получения) антибиотиков (табл. 2).

Среди тех, кто приобретал (получал) антибактериальные препараты без рецепта врача, отмечалось статистически значимо меньше лиц, принимавших препараты в форме инъекций (11,1% против 19,4%; $p < 0,01$), завершивших полный курс приема антибиотиков (71,1% против 85,8%; $p < 0,01$), сдающих анализы до начала приема антибактериальных пре-

паратов для выявления причины заболевания (25,6% против 53,3%; $p < 0,01$), знавших и одобрявших запрет продажи антибиотиков без рецепта врача (59,0% против 75,3% и 39,0% против 56,1%; $p < 0,01$). Кроме того, вышеназванная группа лиц в среднем принимала антибактериальные препараты значимо меньше дней по сравнению с теми, кто приобретал (получал) антибиотики по рецепту врача ($5,5 \pm 3,5$ дней против $6,7 \pm 3,6$ дней; $p < 0,01$).

Таблица 2

Преимущественные источники приобретения (получения) антибиотиков для конкретных групп населения								
Параметр		По рецепту врача, % (n = 657; 44,1% ¹)	Во время госпитализации, % (n = 101; 6,8% ¹)	В аптеке без рецепта врача, % (n = 631; 42,4% ¹)	Остались с прошлого раза, % (n = 167; 11,2% ¹)	Интернет-аптека, % (n = 140; 9,4% ¹)	Родственники или знакомые, % (n = 81; 5,4% ¹)	Avito, Ozoni другие источники % (n = 28; 1,9% ¹)
Возрастные группы, лет	18–24	24,7	6,2*	13,3*	7,5	5,2	7,8*	2,3
	25–34	27,7	3,2*	28,1*	6,1	4,8	2,9*	1,5
	35–44	24,9	3,5	23,9*	5,2	5,2	2,9*	0,6
	45–54	23,4	3,0	27,3	7,1	4,7	1,5*	0,9
	55–64	19,4	2,8	20,5*	6,7	6,2	1,3*	0,7
	65+	20,4	4,9	16,7	4,2	4,9	2,7*	0,0
Социально-профессиональная категория	Руководитель	44,8	10,3	34,5	17,2	13,8	5,2*	5,2
	Самозанятый	31,4*	5,8*	50,4*	14,9	9,1	4,9*	1,7
	Предприниматель	50,0	8,8	47,1	2,9	11,8	0,0*	2,9
	Работник/служащий/специалист	46,8*	5,4*	43,1	9,9	4,7	2,8*	1,5
	Безработный	32,1*	3,7*	50,0*	11,9	8,9	5,2*	2,2
	Пенсионер	45,5	9,6	36,4	11,5	12,4	4,8*	1,0
	Студент	48,5	19,1*	26,5*	17,6	11,8	20,6*	5,9
Финансовое положение	Крайне низкое	26,9	38,4	53,8*	15,4	23,1*	3,8	0,0
	Низкое	37,9	6,4	44,8*	11,3	5,9*	4,4	1,5
	Среднее	46,9	6,3	41,3*	12,3	8,3	5,1	1,9
	Выше среднего	43,3	7,4	43,7*	10,0	11,2	6,1	1,9
	Высокое	54,1	10,8	18,9*	8,1	10,9	8,1	2,7

* $p < 0,01$ при сравнении ответов внутри группы населения; ¹ доля лиц из числа тех, кто получал антибиотики в течение последних 12 мес.

Таблица 3

Характеристика участников в зависимости от источников приобретения (получения) антибиотиков			
Параметр	Приобрели (получили) антибиотики по рецепту врача	Приобрели (получили) антибиотики без рецепта врача	<i>p</i>
Форма приема антибактериальных препаратов – инъекции, %	19,4	11,1	<0,01
Источник назначения (рекомендаций) об антибиотиках – члены семьи или знакомые, %	5,3	14,8	<0,01
Источник назначения (рекомендаций) об антибиотиках – знакомый медицинский работник, %	6,7	14,5	<0,01
Длительность приема антибиотиков, дней	$6,7 \pm 3,6$	$5,5 \pm 3,5$	<0,01
Завершили курс приема антибиотиков, назначенный врачом, %	85,8	71,1	<0,01
Сдавали анализы до начала приема антибиотиков для выявления причины заболевания, %	53,3	25,6	<0,01
Знали о запрете продажи антибиотиков без рецепта врача, %	75,3	59,0	<0,01
Считали правильным запрет продажи антибактериальных препаратов без рецепта врача, %	56,1	39,0	<0,01
Источник информации об антибиотиках – члены семьи или знакомые, %	13,7	18,9	0,006
Источник информации об антибиотиках – Интернет, %	20,4	26,6	0,004
Источник информации об антибиотиках – радио, %	1,8	0,5	0,02

Таблица 6

Параметры, ассоциированные с самолечением антибактериальными препаратами	
Параметр	ОШ (95-й% ДИ)
Женский пол	1,4 (1,0–1,9)
Наличие медицинского образования	2,1 (1,3–3,5)
Отсутствие информации о запрете продажи антибиотиков без рецепта врача	8,4 (5,3–13,3)

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные в настоящей работе, сопоставимы с другими зарубежными исследованиями. Так, в Саудовской Аравии почти 51% опрошенных применяли антибиотики без назначения врача, в том числе для профилактики инфекций, 37,5% покупали их в аптеке без рецепта, а 42% участников прекращали прием препаратов при облегчении симптомов [15]. В Китае доля респондентов, покупавших антибактериальные препараты в аптеке без рецепта врача, достигала 47%, в Эфиопии – 67,3%, США – 66%, Бразилии – 19,0% [8, 16–18].

Параметры, ассоциированные с приемом антибактериальных препаратов не по назначению врача, в Российской Федерации отличаются от других стран. Так, в китайском исследовании X. Yin и соавт. (2022) многофакторный логистический регрессионный анализ показал, что люди в возрасте 30–44 лет с высшим образованием и низкой самооценкой здоровья с большей вероятностью принимали антибиотики не по назначению врача [19]. В исследованиях из Ливана и Эфиопии возраст, финансовое положение, уровень образования и осведомленность об антибиотиках и антибиотикорезистентности в значительной степени коррелировали с практикой самолечения [17, 20].

Аналогичные данные получены и в работе Y. Ateshim и соавт. (2019), где по результатам многомерной логистической регрессии факторами, связанными с самолечением, были пол ($p = 0,046$), уровень образования ($p = 0,019$) и отношения граждан к проблеме антибиотикорезистентности ($p < 0,001$) [21]. Также и в камерунском исследовании мужской пол (ОШ = 2,32; 95%-й ДИ: 1,24–4,34) и высшее образование (ОШ = 2,05; 95%-й ДИ: 1,08–3,89) были значительно связаны с самолечением [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные как в настоящем, так и в других отечественных и зарубежных исследованиях демонстрируют важность проблемы самолечения антибактериальными препаратами. Более того, тот факт, что самолечение ассоциировано с нерациональным приемом препаратов (поскольку пациент не осведомлен о принципах рациональной

Вместе с тем в данной группе было значимо больше лиц, принимавших антибиотики по рекомендации членов семьи и знакомых медицинских работников (14,8 и 14,5% против 5,3 и 6,7%; $p < 0,01$), а также использовавших знания (мнения) членов семьи или знакомых и Интернет в качестве основных источников информации об антибактериальных препаратах (18,9 и 26,6% против 13,7 и 20,4% соответственно; $p = 0,004$ и $p = 0,02$) (табл. 3).

Большая доля респондентов, завершивших полный курс приема антибиотиков, отмечался среди группы лиц, принимавших антибактериальные препараты по назначению врача (83,9%, $n = 847$), по сравнению с остальными респондентами (66,6%, $n = 319$; $p < 0,01$).

Для определения вероятности самолечения антибактериальными препаратами определенных групп населения построена модель логистической регрессии по следующему уравнению:

Вероятность самолечения антибиотиками = $\beta_0 + \beta_1 * \text{Женский пол} + \beta_2 * \text{Мужской пол} + \beta_3 * \text{Источник информации – врач} + \beta_4 * \text{Источник информации – личный опыт} + \beta_5 * \text{Источник информации – средний медицинский персонал или фельдшер} + \beta_6 * \text{Источник информации – Интернет}$.

Таким образом, вероятность того, что женщины будут заниматься самолечением антибактериальными препаратами – 12,2% (95%-й ДИ: 10,2–14,8), мужчины – 9,0% (95%-й ДИ: 7,0–11,5). При использовании Интернета в качестве преимущественного источника информации об антибактериальных препаратах вероятность самолечения снижалась с 19 до 6,3% (95%-й ДИ: 1,3–23,0), врача – с 19 до 3,8% (95%-й ДИ: 2,5–5,9), личный (прошлый) опыт – увеличивалась с 19 до 32,3% (95%-й ДИ: 22,6–42,5) (табл. 5).

Таблица 5

Вероятность самолечения, %		
Параметр	Вероятность самолечения, (95%-й ДИ)	p
Женский пол	12,2 (10,2–14,8)	$< 0,001$
Мужской пол	9,0 (7–11,5)	$< 0,001$
Источник информации – врач	3,8 (2,5–5,9)	$< 0,001$
Источник информации – личный (прошлый) опыт	32,3 (22,6–42,5)	$< 0,001$
Источник информации – средний медицинский персонал или фельдшер	11,5 (6,3–19)	$< 0,001$
Источник информации – Интернет	6,3 (1,3–23)	$< 0,001$

Параметрами, ассоциированными с самолечением антибактериальными препаратами, являлись женский пол (ОШ = 1,4; 95%-й ДИ: 1,0–1,9), наличие медицинского образования (ОШ = 2,1; 95%-й ДИ: 1,3–3,5) и незнание о запрете продажи антибиотиков без рецепта врача (ОШ = 8,4; 95%-й ДИ: 5,3–13,3) (табл. 6).

антибиотикотерапии), удваивает серьезность этого явления.

Поскольку основным источником приобретения (получения) антибиотиков являлась их покупка в аптеке без рецепта врача, приоритетными направлениями по сдерживанию антибиотикорезистентности могут стать пропаганда и строгий контроль запрета продажи антибиотиков без рецепта врача, которые в особенности следует распространить на следующие категории населения:

– медицинские и фармацевтические работники (каналы доступа: профессиональные сайты, медицинские журналы, сайты медицинских организаций и региональных органов исполнительной власти в сфере здравоохранения, профессиональные сообщества);

– граждане без высшего образования (каналы доступа: общеобразовательные учреждения, образовательные учреждения начального профессионального образования, социальные сети, телевидение, метрополитен, иные виды общественного транспорта);

– самозанятые, предприниматели, безработные, граждане с низким финансовым положением (каналы доступа: социальные сети и Telegram-каналы, телевидение, общественный транспорт).

При этом в первую очередь необходимо концентрироваться на возрастной группе от 25 до 34 года: период начала экономической активности граждан, когда они не хотят или не имеют возможности посетить врача и оформить больничный лист, поэтому самостоятельно начинают прием наиболее распространенных и известных им антибактериальных препаратов при заболеваниях, не всегда вызванных бактериями.

Особую категорию повышенного риска самолечения также представляют медицинские работники. Так, по результатам исследования, наличие медицинского образования повышало шансы самолечения в 2 раза. В связи с этим необходимо периодически актуализировать знания медицинских работников об антибактериальных препаратах и антибиотикорезистентности. Например, посредством регулярного проведения «Всемирной недели рационального потребления антибиотиков» в медицинских организациях и аптечных пунктах, в том числе с целью повышения настороженности специалистов сферы здравоохранения к развитию антибиотикорезистентности как у пациентов, так и самих медицинских работников.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Dadgostar P. Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infect. Drug Resist.* 2019;12:3903–3910. DOI: 10.2147/IDR.S234610.
- Urbi Z., Azmi N.S., Hossain M.S. Antimicrobial role of glycosaminoglycans: beyond bacterial adhesion to host cell; proceedings of the 1st International Electronic Conference on Antibiotics; Basel, Switzerland. 8–17 May 2021. DOI: 10.3390/ECA2021-09917.
- Куцевалова О.Ю., Покудина И.О., Розенко Д.А., Мартынов Д.В., Каминский М.Ю. Современные проблемы антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области. *Медицинский вестник юга России.* 2019;10(3):91–96. DOI: 10.21886/2219-8075-2019-10-3-91-96.
- Рафальский В.В. Антибиотикорезистентность возбудителей неосложненных инфекций мочевых путей в Российской Федерации. *Вестник урологии.* 2018;6(3):50–56. DOI: 10.21886/2308-6424-2018-6-3-50-56.
- Elong Ekambi G.A., Okalla Ebongue C., Penda I.C., Nnanga Nga E., Mpondo Mpondo E., Eboumbou Moukoko C.E. Knowledge, practices and attitudes on antibiotics use in Cameroon: Self-medication and prescription survey among children, adolescents and adults in private pharmacies. *PLoS One.* 2019;14(2):e0212875. DOI: 10.1371/journal.pone.0212875.
- Karuniawati H., Hassali M.A.A., Suryawati S., Ismail W.I., Taufik T., Hossain M.S. Assessment of Knowledge, Attitude, and Practice of Antibiotic Use among the Population of Boyolali, Indonesia: A Cross-Sectional Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(16):8258. DOI: 10.3390/ijerph18168258.
- Cheng J., Coope C., Chai J., Oliver I., Kessel A., Wang D. et al. Knowledge and behaviors in relation to antibiotic use among rural residents in Anhui, China. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 2018;27(6):652–659. DOI: 10.1002/pds.4429.
- Grigoryan L., Germanos G., Zoorob R., Juneja S., Raphael J.L., Paasche-Orlow M.K. et al. Use of Antibiotics Without a Prescription in the U.S. Population: A Scoping Review. *Ann. Intern. Med.* 2019;171(4):257–263. DOI: 10.7326/M19-0505.
- Wang X.M., Zhou X.D., Hesketh T. Massive misuse of antibiotics by university students in China: a cross-sectional survey. *Lancet.* 2016;388(1):S94. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32021-9.
- Nepal G., Bhatta S. Self-medication with Antibiotics in WHO Southeast Asian Region: A Systematic Review. *Cureus.* 2018;10(4):e2428. DOI : 10.7759/cureus.2428.
- Auta A., Hadi M.A., Oga E., Adewuyi E.O., Abdu-Aguye S.N., Adeloye D. Global access to antibiotics without prescription in community pharmacies: A systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2019;78(1):8–18. DOI: 10.1016/j.jinf.2018.07.001.
- Zucco R., Lavano F., Anfosso R., Bianco A., Pileggi C., Pavia M. Internet and social media use for antibiotic-related information seeking: Findings from a survey among adult population in Italy. *Int. J. Med. Inform.* 2018;111:131–139. DOI: 10.1016/j.ijmedinf.2017.12.005.
- Horumpende P.G., Said S.H., Mazuguni F.S., Antony M.L., Kumburu H.H., Sonda T.B. Prevalence, determinants and knowledge of antibacterial self-medication: A cross sectional study in North-eastern Tanzania. *PLoS One.* 2018;13(10):e0206623. DOI: 10.1371/journal.pone.0206623.
- Климова Т.М., Кузьмина А.А., Малогулова И.Ш. Распространенность практики самолечения антибиотиками в Ре-

- спублике Саха (Якутия). *Общественное здоровье и здравоохранение*. 2017;2(54):5–9.
15. Al-Shibani N., Hamed A., Labban N., Al-Kattan R., Al-Otaibi H., Alfadda S. Knowledge, attitude and practice of antibiotic use and misuse among adults in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Med. J.* 2017;38(10):1038–1044. DOI: 10.15537/smj.2017.10.19887.
 16. Duan L., Liu C., Wang D. The General Population's Inappropriate Behaviors and Misunderstanding of Antibiotic Use in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(5):497. DOI: 10.3390/antibiotics10050497.
 17. Bogale A.A., Amhare A.F., Chang J., Bogale H.A., Betaw S.T., Gebrehiwot N.T. Knowledge, attitude, and practice of self-medication with antibiotics among community residents in Addis Ababa, Ethiopia. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 2019;17(6):459–466. DOI: 10.1080/14787210.2019.1620105.
 18. Pereira J.Q., Silva M.T., Galvão T.F. Use of antibiotics by adults: a population-based cross-sectional study. *Sao Paulo Med. J.* 2018;136(5):407–413. DOI: 10.1590/1516-3180.2018.0168060818.
 19. Yin X., Gong Y., Sun N., Li D., Wu J., Wang J. Prevalence of inappropriate use behaviors of antibiotics and related factors among chinese antibiotic users: an online cross-sectional survey. *BMC Infect. Dis.* 2022;22(1):689. DOI: 10.1186/s12879-022-07671-1.
 20. Jamhour A., El-Kheir A., Salameh P., Hanna P.A., Mansour H. Antibiotic knowledge and self-medication practices in a developing country: A cross-sectional study. *Am. J. Infect. Control.* 2017;45(4):384–388. DOI: 10.1016/j.ajic.2016.11.026.
 21. Ateshim Y., Bereket B., Major F., Emun Y., Woldai B., Pasha I. Prevalence of self-medication with antibiotics and associated factors in the community of Asmara, Eritrea: a descriptive cross-sectional survey. *BMC Public Health.* 2019;19(1):726. DOI: 10.1186/s12889-019-7020-x.

Информация об авторах

Чигрина Валерия Петровна – мл. науч. сотрудник, отдел научных основ организации здравоохранения, ЦНИИОИЗ, г. Москва, chigrinavp@mednet.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5044-4836>

Тюфиллин Денис Сергеевич – начальник управления стратегического развития здравоохранения, ЦНИИОИЗ, г. Москва, tyufilinds@mednet.ru, <http://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, <http://orcid.org/0000-0002-4449-4810>

Кобякова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, директор ЦНИИОИЗ, г. Москва, kobyakovaos@mednet.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0098-1403>

✉ **Чигрина Валерия Петровна**, chigrinavp@mednet.ru

Поступила в редакцию 23.03.2023;
одобрена после рецензирования 11.04.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Влияние М-CSF на экспрессию маркеров прогениторных эндотелиальных клеток в культуре мононуклеаров крови при ишемической болезни сердца

Чумакова С.П.¹, Уразова О.И.^{1,3}, Шипулин В.М.^{1,2}, Гладковская М.В.¹, Андреев С.Л.²,
Невская К.В.¹, Зима А.П.¹, Никулина Е.Л.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет
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, 111а

³ Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники (ТУСУР)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 40

РЕЗЮМЕ

Цель: оценить характер изменений экспрессии маркеров эндотелиальных прогениторных клеток (VEGFR2, CD34, CD14) и эндотелиоцитов (CD146) в ассоциации с экспрессией панлейкоцитарного маркера CD45 в культуре мононуклеаров крови в присутствии М-CSF у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и здоровых доноров.

Материалы и методы. В исследование вошли 12 больных ИБС со стенокардией напряжения III–V функционального класса и 10 здоровых доноров, у которых утром натощак забирали венозную кровь в количестве 30 мл и стабилизировали гепарином. Мононуклеары крови выделяли на градиенте фиколла 1,077 г/см³ и подвергали иммуномагнитной сепарации с применением антител CD14-MicroBeads и CD34-MicroBead Kit (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Германия). Полученную смешанную по CD14 и CD34 культуру мононуклеаров инкубировали 6 сут в полной питательной среде с добавлением М-CSF 50 нг/мл (Cloud-Clone Corp., США) и без него с полной заменой среды и повторным внесением М-CSF на 3-и сут. Через 6 сут оценивали долю позитивных по CD45, CD14, CD34, VEGFR2, CD146 клеток в культуре с помощью антител CD14-FITC, CD34-PE, VEGFR2-Alexa Fluor 647; CD45-FITC и CD146-PerCP (BD Biosciens, США) методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Показано, что у здоровых доноров доля CD146⁺ клеток в смешанной культуре мононуклеаров крови при добавлении М-CSF превышает их количество в пробе без его внесения при сопоставимых показателях экспрессии маркеров CD45, CD14 и VEGFR2 между контрольной и стимулированной культурами. У больных ИБС численность CD146⁺ и VEGFR2⁺ клеток не изменялась при добавлении М-CSF в культуру мононуклеаров, однако доля CD14⁺ клеток возрастала, а CD45⁺ клеток снижалась относительно контрольной пробы. Количество CD34⁺ клеток было сопоставимым как между контрольной и стимулированной пробами, так и между группами обследованных лиц. При этом у больных ИБС установлено превышение доли VEGFR2⁺ клеток относительно здоровых доноров в контрольной и стимулированной М-CSF пробах, а для CD14⁺ мононуклеаров – только в стимулированной культуре мононуклеаров.

Заключение. Формирование ИБС нарушает реакцию мононуклеаров крови на действие М-CSF, увеличивая число CD14⁺ и уменьшая долю CD45⁺ клеток в культуре при отсутствии стимулирующего влияния на экспрессию маркера CD146 эндотелиальных клеток. При этом М-CSF не влияет на экспрессию маркеров CD34 и VEGFR2 ЭПК как у больных ИБС, так и у здоровых лиц.

Ключевые слова: моноциты, прогениторные эндотелиальные клетки, М-CSF, репарация сосудов, эндотелиоциты, ишемическая болезнь сердца

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

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20038, <https://rscf.ru/project/22-25-20038/> и средств Администрации Томской области.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследования проведены с разрешения локального этического комитета СибГМУ (протокол № 9299 от 28.11.2022).

Для цитирования: Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Гладковская М.В., Андреев С.Л., Невская К.В., Зима А.П., Никулина Е.Л. Влияние M-CSF на экспрессию маркеров прогениторных эндотелиальных клеток в культуре мононуклеаров крови при ишемической болезни сердца. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):156–163. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-156-163>.

Effect of M-CSF on the expression of endothelial progenitor cell markers in blood mononuclear cell culture in coronary heart disease

Chumakova S.P.¹, Urazova O.I.^{1,3}, Shipulin V.M.^{1,2}, Gladkovskaya M.V.¹, Nevskaya K.V.¹, Andreev S.L.², Zima A.P.¹, Nikulina E.L.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., 634012, Russian Federation

³ Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics (TUSUR)
40, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the nature of changes in the expression of markers of endothelial progenitor cells (VEGFR2, CD34, CD14) and endothelial cells (CD146) in association with the expression of the leukocyte common antigen CD45 in the culture of blood mononuclear cells in the presence of M-CSF in patients with coronary heart disease (CHD) and healthy donors.

Materials and methods. The study included 12 patients with CHD with class III–V angina pectoris and 10 healthy donors, from whom 30 ml of venous blood was taken on an empty stomach in the morning and stabilized with heparin. Blood mononuclear cells were isolated by Ficoll density gradient centrifugation (1.077 g / cm³) and subject to immunomagnetic separation using CD14-MicroBeads and CD34-MicroBead Kit (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Germany). The resulting CD14⁺ and CD34⁺ culture of mononuclear cells was incubated for 6 days in a complete nutrient medium with and without M-CSF 50 ng / ml (Cloud-Clone Corp., USA) with complete replacement of the medium and repeated application of M-CSF on day 3. After 6 days, the proportions of CD45⁺, CD14⁺, CD34⁺, VEGFR2⁺, and CD146⁺ cells in the culture were assessed by flow cytometry using CD14-FITC, CD34-PE, VEGFR2-Alexa Fluor 647; CD45-FITC and CD146-PerCP antibodies (BD Biosciences, USA).

Results. It was shown that in healthy donors, the proportion of CD146⁺ cells in the co-culture of blood mononuclear cells with M-CSF exceeded their number in the sample without it, with comparable expression rates of CD45, CD14, and VEGFR2 markers between the control and stimulated cultures. In CHD patients, the number of CD146⁺ and VEGFR2⁺ cells did not change when M-CSF was added to the mononuclear cell culture; however, the proportion of CD14⁺ cells increased and the proportion of CD45⁺ cells decreased compared to the control sample. The number of CD34⁺ cells was comparable both between control and stimulated samples, and between the groups of examined individuals. At the same time, in patients with CHD, an increased proportion of VEGFR2⁺ cells was found in the control and stimulated samples compared to healthy individuals, while an increased proportion of CD14⁺ cells was detected only in the stimulated culture.

Conclusion. The development of CHD disrupts the response of blood mononuclear cells to the effect of M-CSF, increasing the number of CD14⁺ and reducing the proportion of CD45⁺ cells in the culture in the absence of

stimulating effects on the expression of endothelial cell marker CD146. At the same time, M-CSF does not affect the expression of CD34 and VEGFR2 in endothelial progenitor cells both in patients with CHD and in healthy individuals.

Keywords: endothelial progenitor cells, monocytes, M-CSF, vascular repair, endothelial cells, coronary heart disease

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-25-20038, <https://rscf.ru/project/22-25-20038/> and funds of the Tomsk Regional Administration.

Conformity with the principles of ethics. All individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 9299 of 28.11.2022).

For citation: Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Gladkovskaya M.V., Nevskaya K.V., Andreev S.L., Zima A.P., Nikulina E.L. Effect of M-CSF on the expression of endothelial progenitor cell markers in blood mononuclear cell culture in coronary heart disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):156–163. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-156-163>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания в течение многих десятилетий продолжают оставаться основной причиной смерти населения во многих странах мира [1, 2]. Исследования патогенеза сосудистой патологии часто сводятся к изучению вазомоторной эндотелиальной дисфункции сосудов [3, 4], однако ангиогенная ее форма, включающая нарушение ангиогенеза и репаративных процессов в сосудах [5], мало изучается.

При атеросклерозе, лежащем в основе ишемической болезни сердца (ИБС), моноциты могут играть и негативную, и протективную роль. С одной стороны, макрофаги бляшки, поддерживая хроническое воспаление, пролонгируют альтерацию сосудов с помощью матриксных металлопротеиназ (ММР) [1, 6, 7] и способствуют васкуляризации атеромы, что увеличивает риск кровоизлияний в бляшку с последующей ее дестабилизацией [3, 8]. С другой стороны, являясь клетками, содержащими популяцию эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) [9], моноциты могут участвовать в индукции ангиогенеза, который необходим для формирования коллатерального кровотока и репарации поврежденных сосудов, что имеет защитно-приспособительное значение при ИБС.

Реализуют ангиогенез ранние и поздние ЭПК, которые имеют, соответственно, моноцитарный VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁺ и немоноцитарный VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁻ иммунофенотипы [2, 9]. Ранние ЭПК паракринным образом стимулируют выживаемость зрелых эндотелиоцитов, могут приобретать их маркеры, но имеют ограниченную пролифератив-

ную активность; поздние ЭПК обладают высокой пролиферативной активностью и способны активно дифференцироваться в эндотелиоциты [2, 9]. Известно, что циркулирующие ЭПК можно выделить из мононуклеаров периферической крови. Более того, показано, что при культивировании моноцитов в присутствии фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) они трансформируются в промежуточный фенотип клеток и далее дифференцируются в эндотелиоциты, утрачивая панлейкоцитарный маркер CD45 [10]. Также продемонстрирована способность других ростовых факторов стимулировать ангиогенез. Так, культивирование клеток костного мозга с колониестимулирующим фактором гранулоцитов (G-CSF) и макрофагов (M-CSF) увеличивало экспрессию эндотелиальных маркеров CD31 и CD146 [11], а культивирование ЭПК из выделенных из крови моноцитов с колониестимулирующим фактором гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF) увеличивало их пролиферативную активность [12]. Учитывая вышеизложенные факты, можно предположить, что моноциты крови (CD14⁺), обогащенные гемопоэтическими стволовыми (CD34⁺) клетками [2], могут модулировать свой фенотип под воздействием различных стимулов. Поскольку ранние ЭПК являются моноцитарными клетками, то, возможно, что культивирование смешанной культуры моноцитов (CD14⁺) и гемопоэтических стволовых клеток (CD34⁺) в присутствии M-CSF способно повлиять на экспрессию маркеров, характерных для ЭПК.

Цель исследования: оценить характер изменений экспрессии маркеров эндотелиальных прогениторных клеток (VEGFR2, CD34, CD14) и эндотелиоци-

тов (CD146) в ассоциации с экспрессией панлейкоцитарного маркера CD45 при культивировании смешанной культуры CD14⁺ и CD34⁺ мононуклеаров крови в присутствии M-CSF у больных ишемической болезнью сердца и здоровых доноров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное, контролируемое (случай–контроль), одноцентровое, наблюдательное исследование с декабря 2022 г. по май 2023 г. В исследование вошло 12 больных ИБС (10 мужчин и 2 женщины, средний возраст 62,0 [56,5; 64,0] года) со стенокардией напряжения II–IV функционального класса и недостаточностью кровообращения преимущественно II–III функционального класса по NYHA, имевших инфаркт миокарда в анамнезе и находившихся в стационаре НИИ кардиологии Томского НИМЦ с целью выполнения операции коронарного шунтирования. Больные получали стандартную антиангинальную терапию с применением нитратов продленного действия, β1-адреноблокаторов, блокаторов кальциевых каналов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, а также антиагрегантную терапию с использованием препаратов ацетилсалициловой кислоты или блокаторов P2Y₁₂-рецепторов и гиполипидемическую терапию с назначением статинов. Группу сравнения составили 10 практически здоровых доноров (7 мужчин и 3 женщины, средний возраст 57,5 [48,0; 65,5] лет), не имеющих каких-либо заболеваний сердечно-сосудистой системы и жалоб соответствующего характера.

Критериями исключения больных из исследования считали возраст старше 70 лет, наличие аутоиммунных заболеваний, аллергического процесса в стадии обострения, опухолевого процесса, вирусных гепатитов, сифилиса, ВИЧ-инфекции, анемий, проведение курсов лечения железосодержащими препаратами, эритропоэтиновой или иммуносупрессивной терапии, наличие острых инфекционных заболеваний менее чем за 3 нед до исследования, а также отказ пациента от исследования.

Исследования проводились в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации (1975), и с разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 9299 от 28.11.2022).

Материалом исследования служила кровь из кубитальной вены в объеме 30 мл, взятая утром натощак до физической нагрузки, проведения диагностических и лечебных процедур, которую стабилизировали гепарином (25 МЕ/мл). Мононуклеары крови выделяли методом градиентного центрифугирования с помощью фикола плотностью 1,077 г/см³ (ООО НПО «ПанЭко», г. Москва). После двукратной отмывки мононуклеаров 0,5%-м PBS (PBS, pH = 7,2) выполняли иммуномагнитную сепарацию с использованием антител CD14 MicroBeads и CD34 MicroBead Kit (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Германия), сепарационных колонок MS (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Германия) и магнита MiniMACS (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Германия) согласно инструкциям производителя. Чистота выделения, т. е. доля CD14⁺ и CD34⁺ клеток в культуре составляла 80–85 % и 5–7% соответственно. Жизнеспособность клеток определяли в тесте с 0,1%-м трипановым синим (ООО НПО «ПанЭко», г. Москва), если она составляла не менее 96%, клетки вносили в две лунки 24-луночного планшета по 106 клеток в каждую. Инкубировали 6 сут в условиях 5%-го CO₂ в полной питательной среде (питательная среда RPMI-1640 (ООО НПО «ПанЭко», г. Москва), эмбриональная телячья сыворотка, L-глутамин, пенициллин-стрептомицин) с добавлением в одну из лунок 50 нг/мл рекомбинантного M-CSF человека (CloudClone Corp., США). При этом через 3 сут инкубации производили частичную замену среды и повторное внесение стимулятора в той же дозе. Пробу с рекомбинантным M-CSF считали стимулированной, без M-CSF – контрольной. Через 6 сут клетки снимали с поверхности планшетов с помощью инкубации с 500 мкл 0,05%-го раствора трипсин-ЭДТА (ООО НПО «ПанЭко», г. Москва) на лунку в течение 5 мин при 37 °С. После отмывки клеток 500 мкл 0,5%-го PBS осадок ресуспендировали и клетки использовали для проточной цитофлуориметрии.

Проточную цитофлуориметрию для определения экспрессии молекул CD45, CD14, CD34, VEGFR2 (KDR; CD309) и CD146 в смешанной культуре мононуклеаров крови выполняли с использованием моноклональных антител при двух сочетаниях меток: CD14-FITC, CD34-PE, VEGFR2(KDR; CD309)-Alexa Fluor 647 и CD45-FITC, CD146-PerCP, VEGFR2(KDR; CD309)-Alexa Fluor 647 согласно инструкциям производителя (BD Biosciens, США), погибшие клетки исключали из анализа с помощью окрашивания DAPI (Wuhan Servicebio Technology Co.Ltd., Китай). Измерения интенсивности флуоресценции проводили на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter International S.A., США), анализ полученных данных осуществляли при помощи программного приложения CytExper 2.3 (Beckman Coulter International S.A., США). Границы позитивности свечения меток устанавливали с помощью FMO (флуоресценция минус один флуорохром). Оценивали долю позитивных по каждому маркеру клеток как долю (%) от общего

количества случаев, исключая область мелких объектов (FSC менее 100×10^4).

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программы Statistica 10.0. При статистическом описании результатов вычисляли медиану и интерквартильный размах ($Me [Q_1; Q_3]$). С целью сравнительного анализа выборочных данных применяли критерии Манна – Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок). Результаты статистического анализа считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ контрольной и стимулированной с помощью М-CSF проб смешанной (по $CD14^+$ и $CD34^+$) культуры мононуклеаров крови у здоровых доноров выявил статистически значимое увеличение доли только $CD146^+$ клеток в образце

с добавлением М-CSF относительно пробы без его внесения при сопоставимых показателях экспрессии для маркеров $CD45$, $CD14$ и $VEGFR2$ (таблица). У больных ИБС численность $CD146^+$ клеток, напротив, не изменялась при добавлении в культуру М-CSF, как и количество $VEGFR2^+$ клеток, однако, доля $CD14^+$ мононуклеаров статистически значимо возрасла, а $CD45^+$ снижалась относительно контрольной пробы. Между тем экспрессия $CD34$ не имела различий ни между контрольной и стимулированной пробами, ни между группами обследованных лиц.

Сопоставление показателей экспрессии изучаемых маркеров между группами обследованных лиц установило превышение относительного количества $VEGFR2^+$ клеток у больных ИБС относительно здоровых доноров как в контрольной, так и в стимулированной М-CSF пробах, а для $CD14^+$ мононуклеаров – только в стимулированной пробе (таблица 1).

Таблица

Экспрессия маркеров эндотелиальных прогениторных клеток и эндотелиоцитов, а также CD45-молекул в смешанной по $CD14^+$ и $CD34^+$ культуре мононуклеаров крови, стимулированных и не стимулированных М-CSF у больных ИБС и здоровых доноров, $Me [Q_1; Q_3]$				
Доля клеток, экспрессирующих маркер, %	Здоровые доноры		Больные ИБС	
	Контрольная проба	Проба с добавлением М-CSF	Контрольная проба	Проба с добавлением М-CSF
CD45	56,18 [40,55; 64,20]	30,93 [23,40; 47,12] $p_k = 0,288$	30, 79 [19,66; 46,60] $p = 0,135$	17,68 [11,62; 23,90] $p = 0,217$ $p_k = 0,049$
CD14	25,82 [18,34; 31,10]	19,17 [12,32; 26,80] $p_k = 0,627$	26,43 [15,93; 30,12] $p = 0,916$	40,36 [25,14; 51,69] $p = 0,046$ $p_k = 0,031$
CD34	22,71 [18,14; 27,58]	19,18 [15,07; 23,76] $p_k = 0,743$	15,84 [10,86; 24,11] $p = 0,566$	17,32 [14,24; 22,31] $p = 0,920$ $p_k = 0,855$
VEGFR2	4,38 [1,75; 9,25]	5,62 [2,51; 11,43] $p_k = 0,315$	21,16 [13,05; 28,56] $p = 0,002$	25,47 [13,80; 32,16] $p = 0,013$ $p_k = 0,407$
CD146	1,79 [0,94; 2,70]	2,82 [1,63; 5,40] $p_k = 0,023$	1,44 [0,90; 3,82] $p = 0,821$	2,36 [1,59; 4,27] $p = 0,763$ $p_k = 0,194$

Примечание. Уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием клеток в контрольной пробе – p_k , у здоровых доноров – p .

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование влияния М-CSF на экспрессию маркеров, присущих ранним ЭПК ($VEGFR2$, $CD34$, $CD14$) и более дифференцированным эндотелиоцитам ($CD146$), установила различия в эффектах этого цитокина на смешанную по $CD14^+$ и $CD34^+$ культуру мононуклеаров крови у больных ИБС и здоровых до-

норов (см. таблицу). Показано, что физиологическая реакция данных клеток на М-CSF заключается в усилении экспрессии $CD146$, которая у больных ИБС не происходит.

Молекула $CD146$ экспрессируется на эндотелиоцитах и перицитах, способствуя формированию межклеточных контактов между ними, повышая адгезивность эндотелия и выживаемость эндотели-

оцитов, а также внося вклад в рекрутирование перидцитов, хоуминг ЭПК, архитектуру сосудов и их стабилизацию [13, 14]. Показано, что растворимая его форма sCD146 усиливает ангиогенные свойства ЭПК, а инъекция sCD146 улучшает неоваскуляризацию в модели ишемии на мышцах, что опосредуется VEGFR1, VEGFR2, ангиомотином и shCD146-изоформой [13]. Поэтому увеличение экспрессии CD146 в культуре мононуклеаров крови у здоровых лиц можно рассматривать как позитивный эффект М-CSF, который у больных ИБС мог бы оказать протективное влияние на пораженные атеросклерозом сосуды ишемизированного миокарда, но при ИБС не реализуется (см. таблицу).

На модели хронической обструктивной болезни легких показано, что дефицит CD146 в клетках эндотелия легких связан с повышенной его проницаемостью и инфильтрацией тканей моноцитами, а добавление sCD146 увеличивает трансмиграцию моноцитов *in vitro* [13]. Соответственно, нарушение экспрессии CD146 при действии М-CSF у больных ИБС может не только затруднять ангиогенез, но и усиливать миграцию моноцитов в стенку сосуда и ткани, способствуя воспалению и фиброзу. Так, дефицит CD146 связан с подавлением и усилением неканонического и канонического путей Wnt соответственно, что приводит к профибротическому состоянию [15].

Поскольку CD146 в большей степени представлен на зрелых эндотелиоцитах и часто используется как маркер десквамированных эндотелиальных клеток [14, 16, 17], а в меньшей степени – на ЭПК [9, 14], то у здоровых лиц под влиянием М-CSF в культуре мононуклеаров крови происходит, вероятно, формирование зрелого фенотипа эндотелиоцитов. При этом экспрессия другого эндотелиального маркера VEGFR2, присущего ЭПК и эндотелиоцитам, и у здоровых лиц, и у больных ИБС в культуре мононуклеаров крови не изменялась в присутствии М-CSF (см. таблицу).

Связывание VEGFR2 со своими лигандами VEGF-A и VEGF-C стимулирует экспрессию адгезивных молекул, проницаемость сосудов и выживаемость клетки (через активацию пути PI3K/АКТ), ее прикрепление и миграцию (через активацию p38MAPK и киназы фокальной адгезии FAK), а также пролиферативный ответ (через активацию митоген-активируемой протеинкиназы MAPK и экстрацеллюлярно регулируемой киназы ERK) [18]. Следовательно, можно предположить, что ранние VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁺ и поздние VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁻ ЭПК, которые присутствовали в культуре мононуклеаров (поскольку подверга-

лись сепарации по CD34⁺), трансформировались под влиянием М-CSF у здоровых доноров в более зрелый фенотип с экспрессией CD146, но без увеличения пролиферативного потенциала клеток посредством сигналинга VEGFR2. При ИБС данная трансформация, очевидно, не происходила. Поскольку экспрессия VEGFR2 и CD34 в культуре мононуклеаров крови не увеличивалась в присутствии М-CSF ни у здоровых лиц, ни у больных ИБС (см. таблицу), то нельзя утверждать, что М-CSF способствует дифференцировке или пролиферации ЭПК. Тем не менее доля VEGFR2⁺ клеток в смешанной культуре мононуклеаров крови у больных ИБС была выше, чем у здоровых лиц, как в присутствии М-CSF, так и без такового (см. табл. 1). Данный факт, очевидно, связан с исходно большей сепарацией VEGFR2⁺CD34⁺ клеток у пациентов ввиду высокого содержания VEGFR2⁺ клеток в крови у больных ИБС, который мы описывали ранее [17].

Обращает на себя внимание значительно большая доля CD34⁺ клеток в обеих группах обследованных лиц после культивирования мононуклеаров (см. таблицу) относительно того, который был получен с помощью иммуномагнитной сепарации (см. раздел «Материалы и методы»). Показано, что мононуклеары крови в культуре могут трансформироваться не только в эндотелиальные клетки и макрофаги, но и в фиброциты, экспрессирующие CD34 [19]. Мы наблюдали формирование в культуре веретенообразных клеток (результаты не представлены, ведется их статистическая обработка), форма которых присуща как фиброцитам [19], так и концевым эндотелиальным клеткам [2, 10]. Однако без изучения специфических маркеров фиброцитов, таких как наличие внутриклеточного коллагена и CD34 при отсутствии экспрессии CD33, CD35, CD93 [19], нельзя судить о влиянии М-CSF на дифференцировку фиброцитов.

Неизменность доли CD34⁺ мононуклеаров в культуре при действии М-CSF у обследованных лиц обеих групп (см. таблицу) может быть также связана с индукцией этим цитокином разнонаправленных процессов: стимуляции образования из моноцитов (CD14⁺), не экспрессирующих CD34⁺, в несущие его фиброциты, и с переходом CD34⁺ ЭПК в зрелые формы эндотелиальных клеток, утрачивающие CD34⁺. Так, в культуре моноцитов крови *in vitro* были обнаружены CD34⁺ клетки с высокой экспрессией маркеров эндотелиальных клеток, окруженные веретенообразными клетками.

Со временем стали выделять два типа колониеобразующих единиц (КОЕ) в культуре моноцитов: КОЕ-клетки Хилла и эндотелиальные колониеобразующие клетки. Первые являются фагоцитирующе-

щими и экспрессируют CD14, CD45, CD115, но не обладают пролиферативной и васкулогенной активностью, а вторые не имеют CD14, CD45, CD115, экспрессируют маркеры эндотелиальных клеток и образуют капилляроподобные структуры *in vitro* и сосуды *in vivo* [2]. Поскольку у больных ИБС, в отличие от здоровых лиц, воздействие M-CSF вызвало накопление CD14⁺ клеток (см. таблицу), то это свидетельствует в пользу усиленного образования именно КОЕ-клеток Хилла. При этом снижение экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45 на культивируемых мононуклеарах крови у больных ИБС при добавлении M-CSF может объясняться, вероятно, его стимулирующим влиянием на трансформацию моноцитов в различные клетки, как не несущие CD45 (эндотелиальные [2]), так и слабо его экспрессирующие (фиibroциты и макрофаги [19]).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При ИБС изменяется характер ответной реакции CD14⁺ и CD34⁺ мононуклеаров крови на действие M-CSF, что проявляется усилением экспрессии маркеров CD14 и угнетением экспрессии CD45-молекул. При этом утрачивается физиологическая реакция этих клеток на стимуляцию M-CSF в виде усиления экспрессии эндотелиального маркера CD146. Между тем M-CSF не изменяет экспрессию маркеров ЭПК (VEGFR2, CD34) на CD14⁺ и CD34⁺ мононуклеарах крови как в норме, так и при развитии ИБС. Полученные знания формируют представления об эффективности цитокиновой и клеточной терапии с использованием M-CSF для индукции ангиогенеза у больных ИБС и механизмах возможного его терапевтического эффекта. Эти данные могут стать основой для разработки нового метода лечения ИБС при условии исключения побочного действия рекомбинантного M-CSF, что требует дальнейших исследований *in vivo*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Del Buono M.G., Moroni F., Montone R.A., Azzalini L., Sanna T., Abbate A. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction. *Curr. Cardiol. Rep.* 2022;24(10):1505–1515. DOI: 10.1007/s11886-022-01766-6.
- Heinisch P.P., Bello C., Emmert M.Y., Carrel T., Dreßen M., Hörer J. et al. Endothelial Progenitor Cells as Biomarkers of Cardiovascular Pathologies: A Narrative Review. *Cells.* 2022;11(10):1678. DOI: 10.3390/cells11101678.
- Poston R.N. Atherosclerosis: integration of its pathogenesis as a self-perpetuating propagating inflammation: a review. *Cardiovasc. Endocrinol. Metab.* 2019;8(2):51–61. DOI: 10.1097/XCE.0000000000000172.
- Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2022;23(2):73. DOI: 10.31083/j.rcm2302073.
- Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических заболеваний. *Казанский медицинский журнал.* 2015;96(4):659–665. DOI: 10.17750/KMJ2015-65.
- Eligini S., Cosentino N., Fiorelli S., Fabbiochi F., Niccoli G., Refaat H. Biological profile of monocyte-derived macrophages in coronary heart disease patients: implications for plaque morphology. *Sci. Rep.* 2019;9(1):8680. DOI: 10.1038/s41598-019-44847-3.
- Xu H., Jiang J., Chen W., Li W., Chen Z. Vascular macrophages in atherosclerosis. *J. Immunol. Res.* 2019;2019:4354786. DOI: 10.1155/2019/4354786.
- Moroni F., Ammirati E., Norata G.D., Magnoni M., Camici P.G. The role of monocytes and macrophages in human atherosclerosis, plaque neoangiogenesis, and atherothrombosis. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:e7434376. DOI: 10.1155/2019/7434376.
- Chopra H., Hung M.K., Kwong D.L., Zhang C.F., Pow E.H.N. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells International.* 2018;2018:9847015. DOI: 10.1155/2018/9847015.
- Lopes-Coelho F., Silva F., Gouveia-Fernandes S., Martins C., Lopes N., Domingues G. et al. Monocytes as endothelial progenitor cells (EPCs), another brick in the wall to disentangle tumor angiogenesis. *Cells.* 2020;9(1):107. DOI: 10.3390/cells9010107.
- Zhang Y., Adachi Y., Iwasaki M., Minamino K., Suzuki Y., Nakano K. et al. G-CSF and/or M-CSF accelerate differentiation of bone marrow cells into endothelial progenitor cells *in vitro*. *Oncol Rep.* 2006;15(6):1523–1527.
- Qiu C., Xie Q., Zhang D., Chen Q., Hu J., Xu L. GM-CSF induces cyclin D1 expression and proliferation of endothelial progenitor cells via PI3K and MAPK signaling. *Cell Physiol. Biochem.* 2014;33(3):784–795. DOI: 10.1159/000358652.
- Leroyer A.S., Blin M.G., Bachelier R., Bardin N., Blot-Chabaud M., Dignat-George F. CD146 (cluster of differentiation 146). *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019;39(6):1026–1033. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312653.
- Гончаров Н.В., Попова П.И., Авдонин П.П., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Корф А. и др. Маркеры эндотелиальных клеток в норме и при патологии. *Биологические мембраны. Журнал мембранной и клеточной биологии.* 2020;37(1):3–21. DOI: 10.31857/S0233475519040054.
- Kaspi E., Heim X., Granel B., Guillet B., Stalini J., Nolle M. et al. Identification of CD146 as a novel molecular actor involved in systemic sclerosis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017;140(5):1448–1451.e6. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.04.046.
- Сайганов С.А., Кузьмина-Крутецкая А.М. Эндотелиальная дисфункция и циркулирующие эндотелиальные клетки у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* 2018;10(2):2732. DOI: 10.17816/mechnikov201810227-32.
- Чумакова С.П., Уразова О.И., Денисенко О.А., Погонченкова Д.А., Шипулин В.М., Прякин А.С. и др. Моноциты крови в поддержании баланса деструктивных и репаративных процессов в сосудистом эндотелии при ишемической кардиомиопатии. *Комплексные проблемы сер-*

- дечно-сосудистых заболеваний. 2022;11(3):84–96. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-3-84-96.
18. Peach C.J., Mignone V.W., Arruda M.A., Alcobia D.C., Hill S.J., Kilpatrick L.E. et al. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: binding and signalling at VEGFR2. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(4):1264. DOI: 10.3390/ijms19041264.
19. Pilling D., Fan T., Huang D., Kaul B., Gomer R.H. Identification of markers that distinguish monocyte-derived fibrocytes from monocytes, macrophages, and fibroblasts. *PLoS One*. 2009;4(10):e7475. DOI: 10.1371/journal.pone.0007475.

Вклад авторов

Чумакова С.П. – разработка дизайна исследования, анализ литературы, статистическая обработка результатов исследования и их интерпретация, написание и оформление текста рукописи. Уразова О.И. – разработка дизайна исследования, материально-техническое обеспечение проведения лабораторных исследований, интерпретация результатов, корректировка текста рукописи. Шипулин В.М. – консультирование по вопросам планирования исследования и интерпретации клинических аспектов результатов, полученных у кардиологических больных. Гладковская М.В. – пробоподготовка биоматериала и выполнение культурных методов исследования. Андреев С.Л. – взаимодействие с кардиологическими пациентами, обеспечение клинического материала. Невская К.В. – выполнение метода проточной цитофлуориметрии. Зима А.П. – материально-техническое обеспечение проведения лабораторных исследований, интерпретация результатов. Никулина Е.Л. – статистическая обработка результатов исследования.

Информация об авторах

Чумакова Светлана Петровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ, г. Томск, chumakova_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ; профессор кафедры комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР; г. Томск, urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Шипулин Владимир Митрофанович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, науч. руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ, г. Томск, shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Гладковская Маргарита Вадимовна – лаборант-исследователь, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, gladkovskaya0@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1163-3439>

Андреев Сергей Леонидович – канд. мед. наук, врач-сердечно-сосудистый хирург, ст. науч. сотрудник, отделение сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, anselen@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>

Невская Ксения Владимировна – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, nevskayaksenia@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1659-8812>

Зима Анастасия Павловна – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, e-mail: zima2302@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9034-7264>

Никулина Евгения Леонидовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, nikulina85@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9673-5487>

(✉) Чумакова Светлана Петровна, chumakova_s@mail.ru

Поступила в редакцию 15.05.2023;
одобрена после рецензирования 19.05.2023;
принята к публикации 25.05.2023

УДК 616.98:578.834.1]-092: 616-008.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-164-173>



Дисбаланс адипокинов и его роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции

Беспалова И.Д., Митриченко У.М., Калюжин В.В., Королева Е.С., Кошавцева Ю.И., Романов Д.С., Першина Д.Е.

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

РЕЗЮМЕ

В обзоре обобщены и проанализированы результаты крупных зарубежных исследований, касающихся изучения роли адипокинового дисбаланса в развитии тяжелого течения и осложнений новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Адипокины – биологически активные соединения, которые вырабатываются клетками жировой ткани и участвуют в регуляции обмена веществ и работы иммунной системы.

Известно, что ожирение является доказанным фактором риска тяжелого течения COVID-19 в связи с высокой гормональной и метаболической активностью висцеральной жировой ткани. Глубокое понимание патогенеза COVID-19 с позиций участия в нем адипокинового дисбаланса может лечь в основу разработки эффективных патогенетических подходов к профилактике тяжелого течения и осложнений новой коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, метаболический синдром, ожирение, адипокины, адипокиновый дисбаланс

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: Беспалова И.Д., Митриченко У.М., Калюжин В.В., Королева Е.С., Кошавцева Ю.И., Романов Д.С., Першина Д.Е. Дисбаланс адипокинов и его роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции. *Бюллетень сибирской медицины.* 2023;22(4):164–173. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-164-173>.

Adipokine imbalance and its role in the pathogenesis of novel coronavirus infection

Bespalova I.D., Mitrichenko U.M., Kalyuzhin V.V., Koroleva E.S., Koshchavtseva Yu.I., Romanov D.S., Pershina D.E.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The review summarizes and analyzes the results of major foreign studies on the role of adipokine imbalance in the development of a severe course and complications of novel coronavirus infection (COVID-19). Adipokines are biologically active compounds produced by adipose tissue cells and involved in the regulation of metabolism and the functioning of the immune system.

✉ Беспалова Инна Давидовна, innadave@mail2000.ru

Obesity is a proven risk factor for severe COVID-19 due to high hormonal and metabolic activity of visceral adipose tissue. A deep understanding of COVID-19 pathogenesis from the point of view of the role of adipokine imbalance in it can provide the grounds for the development of effective pathogenetic approaches to the prevention of a severe course and complications of novel coronavirus infection.

Keywords: novel coronavirus infection, SARS-CoV-2, metabolic syndrome, obesity, adipokines, adipokine imbalance

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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: Bepalova I.D., Mitrichenko U.M., Kalyuzhin V.V., Koroleva E.S., Koshchavtseva Yu.I., Romanov D.S., Pershina D.E. Adipokine imbalance and its role in the pathogenesis of novel coronavirus infection. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):164–173. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-164-173>.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция (НКИ), вызываемая вирусом SARS-CoV-2, стала серьезной медико-социальной проблемой во всем мире, что подтверждается эпидемиологическими исследованиями последних лет [1]. COVID-19 существенно повлиял на уровень и структуру инвалидизации и смертности трудоспособного населения [2]. Несмотря на то, что Всемирной организацией здравоохранения было объявлено о завершении пандемии, уровень заболеваемости НКИ остается значительным. Инфекционный процесс COVID-19 проявляется разнообразием симптомов и выраженностью клиники, от бессимптомного течения до фульминантных форм [3]. Представления научного сообщества о механизмах влияния вируса SARS-CoV-2 на организм продолжают дополняться, и в настоящее время имеется достаточно данных, свидетельствующих не только о поражении органов дыхания, но и вовлечении в патологический процесс других систем организма [4].

Острота проблемы НКИ детерминирована не только беспрецедентным уровнем распространенности, склонностью к тяжелому течению и частотой смертельных осложнений, но и отсутствием исчерпывающего представления, в связи с коротким периодом наблюдения, о ведущих звеньях патогенеза данной инфекции, определяющих прогноз. В научной литературе последних лет широко обсуждаются вопросы поиска предикторов тяжелого течения и неблагоприятных исходов COVID-19, включая смертность.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ КАК ФАКТОР РИСКА ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ НКИ

К настоящему моменту накоплено большое количество фактов, убедительно свидетельствующих о том, что в качестве предикторов тяжелого и ос-

ложненного течения НКИ следует учитывать компоненты метаболического синдрома (МС). Метаболический синдром характеризуется как комплекс метаболических, гормональных и клинических нарушений, ассоциированный с большим числом социально значимых хронических неинфекционных заболеваний, а также определяющий тяжелое течение ряда инфекционных процессов. В качестве основных компонентов МС рассматривают инсулинорезистентность, дислипидемию, абдоминальное ожирение и артериальную гипертензию (АГ). Каждый из этих компонентов лежит в основе развития, тяжелого и осложненного течения ассоциированной патологии, ухудшает прогноз и негативно влияет на качество жизни пациентов [5].

Распространенность МС в последние годы приобрела пандемический характер, сохраняет тенденцию к росту, охватывая в Российской Федерации, по последним оценкам, до 50% населения [6]. Одним из ключевых патогенетических факторов, объединяющим МС и ассоциированные с ним заболевания, принято считать хроническое системное вялотекущее воспаление. Это иллюстрировано многочисленными исследованиями, показывающими прямую связь уровня маркеров системного воспаления с выраженностью метаболических нарушений и риском развития ряда неинфекционных социально значимых заболеваний [5, 7].

С начала пандемии НКИ накоплены данные о влиянии метаболических нарушений на течение инфекционного процесса. Внимание исследователей было обращено на то, что наличие ожирения, АГ и нарушений углеводного обмена повышало риск госпитализации и тяжелого течения COVID-19 [8, 9].

Так, в проведенном J.L. Denson с соавт. когортном исследовании, включающем 29 040 пациентов, госпитализированных с НКИ, было выявлено, что наличие МС значительно повышает риск госпита-

лидации в отделение интенсивной терапии (ОИТ), частоту использования искусственной вентиляции легких (ИВЛ), развития острого респираторного дистресс-синдрома и летального исхода. При этом выраженность метаболических нарушений определяла риск развития осложнений [10]. Было установлено, что МС проявил себя как более надежный прогностический фактор тяжелого течения COVID-19, чем каждый из его компонентов отдельно [11]. Тем не менее каждый из компонентов вносит свой негативный вклад и усугубляет течение инфекционного процесса, что также подтверждается результатами целого ряда исследований. Проведенный в 2021 г. метаанализ, объединивший данные 186 исследований, показал рост относительного риска смерти от COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом (СД) на 54%, у пациентов с АГ – на 42%, а у пациентов с ожирением – на 45% [12].

НАРУШЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА И НКИ

Задолго до пандемии COVID-19 были опубликованы результаты, характеризующие гипергликемию и СД как независимые предикторы тяжелого течения и смертности для респираторных инфекций, таких как атипичная пневмония, вызванная SARS [13]. По мере распространения пандемии НКИ, исследователи разных стран указывали на то, что наличие СД значительно повышает риск летального исхода при COVID-19 [14–16]. При этом отмечалось, что не только наличие СД ассоциировано с развитием неблагоприятных исходов, но и повышение уровня глюкозы в крови натощак было связано с высоким риском смертности после поправки на возраст, пол и сопутствующие заболевания [17].

Результаты метаанализов также показали, что гипергликемия при поступлении является сильным независимым предиктором тяжелого течения и летального исхода при COVID-19; в частности, увеличение концентрации глюкозы на 1 ммоль/л повышало риск тяжелого течения на 33% [18, 19]. В настоящее время известно, что уровень HbA1c также связан с увеличением смертности и тяжестью течения НКИ [20].

АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ И НКИ

Анализ многочисленных наблюдательных исследований выявил, что риск смерти для пациентов с АГ при COVID-19 был на 11% выше, чем для пациентов без АГ [12]. В некоторых отчетах предполагалось, что АГ может представлять собой фактор риска высокой восприимчивости к инфекции SARS-CoV-2, более тяжелого течения COVID-19 и увеличения числа

летальных исходов. Тем не менее самостоятельная роль АГ остается предметом дискуссий, поскольку этот синдром часто связан с пожилым возрастом и другими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний в общей популяции, которые также могут отягощать течение COVID-19. Считается, что высокое и неконтролируемое систолическое АД может способствовать более тяжелому течению COVID-19, вероятно, за счет наличия сосудистого ремоделирования, которое может усугублять эндотелиальную дисфункцию, эндотелиальное повреждение и эндотелиит, вызываемые инфекцией SARS-CoV-2 [21].

ДИСЛИПИДЕМИЯ И НКИ

Внимание исследователей было обращено на характер дислипидемии, имеющей отличительные черты при COVID-19. Китайскими учеными в начале пандемии были описаны изменения липидного профиля, характерные для COVID-19: значительное снижение уровня общего холестерина, липопротеинов низкой плотности и липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови по сравнению с контролем [22]. При этом гиподислипидемия, возникавшая у пациентов даже с легким течением инфекции, имела тенденцию к прогрессированию по мере нарастания тяжести НКИ [23, 24]. Другая группа исследователей отметила, что у пациентов, госпитализированных в ОИТ, наблюдался более высокий уровень триацилглицеролов [25]. Впоследствии, по мере накопления клинических данных, были проведены крупные метаанализы, подтвердившие ассоциацию дислипидемии с тяжестью течения COVID-19 и риском смерти [26, 27].

ОЖИРЕНИЕ И НКИ

Ожирение как неблагоприятный прогностический фактор при респираторных инфекционных заболеваниях рассматривалось задолго до COVID-19. Еще в 2009 г. во время пандемии гриппа А (H1N1) ожирение впервые характеризовали как предиктор тяжелого течения заболевания и высокой смертности инфицированных лиц [28]. В дальнейших клинических исследованиях гриппа H1N1 ожирение было связано с повышенным риском госпитализации, перевода в ОИТ и потребностью в ИВЛ [29, 30]. С начала эпидемии НКИ исследователями было отмечено, что значительная часть инфицированных SARS-CoV-2 пациентов с дыхательной недостаточностью, поступивших в ОИТ, имели избыточную массу тела. Стойкая взаимосвязь абдоминального ожирения с неблагоприятными исходами инфекции COVID-19 (риском госпитализаций, выраженностью клинических и параклинических симптомов, разви-

тием дыхательной недостаточности, потребностью в ИВЛ и летальностью) была подтверждена целым рядом независимых исследований, проведенных в разных странах [31–33]. Метаанализ нескольких крупномасштабных эпидемиологических исследований свидетельствует о том, что с увеличением массы тела значительно возрастает и тяжесть заболевания [34–36].

Таким образом, ассоциация ожирения и неблагоприятных клинических исходов COVID-19 устойчива повсеместно и сохраняется даже после корректировки смешанных переменных, таких как возраст, пол и наличие коморбидной патологии. В настоящее время обсуждаются различные механизмы, объясняющие, почему пациенты с ожирением являются наиболее восприимчивыми к респираторным инфекциям, включая COVID-19. Патогенетическая роль абдоминального ожирения в развитии нежелательных исходов ассоциированных заболеваний объясняется высокой эндокринной и метаболической активностью жировой ткани. Висцеральная жировая ткань в большом количестве секретирует биологически активные вещества – адипокины, которые реализуют свое системное действие путем участия в регуляции самых разных функций организма [37]. Биологические эффекты адипокинов и молекулярные механизмы их действия требуют внимательного изучения [28]. В последнее время пристальное внимание исследователей направлено на изучение роли адипокинового дисбаланса не только в патогенезе заболеваний, ассоциированных с МС, но и в механизмах развития COVID-19.

АДИПОКИНОВЫЙ ДИСБАЛАНС И НКИ

К наиболее изученным адипокинам к настоящему моменту относятся лептин и адипонектин.

Лептин – адипокин, синтезируемый преимущественно жировыми клетками в ответ на прием пищи, выполняющий роль сигнальной молекулы для мозга в регуляции аппетита и обмена веществ. Уровни циркулирующего лептина прямо пропорциональны массе жировой ткани в организме и изменяются в условиях как хронического отрицательного, так и положительного энергетического баланса, вследствие чего недоедание способствует гиполептинемии, а ожирение – гиперлептинемии [39]. Помимо своей основной роли в регуляции аппетита и поддержании массы тела за счет индукции анорексигенных факторов, подавления орексигенных нейропептидов в гипоталамусе и влияния на энергетический обмен, лептин играет немаловажную роль в функционировании иммунной, гемопозитической, нейроэндокринной и репродуктивной систем [40].

Лептин характеризуется многими исследователями как индуктор воспаления и окислительного стресса, поскольку его уровень в крови ассоциирован с провоспалительной и прооксидантной активностью иммунокомпетентных клеток крови и жировой ткани [41–43]. В этой связи научный интерес исследователей к роли этого адипокина в механизмах развития НКИ является обоснованным.

Так, было установлено, что средний уровень лептина в крови был выше у пациентов с НКИ, находящихся в критическом состоянии, в отличие от группы пациентов в критическом состоянии, не связанном с COVID-19, при этом уровень лептина коррелировал с индексом массы тела (ИМТ) [34, 44]. Наряду с уровнем провоспалительных цитокинов уровень лептина тесно сопряжен с прогрессированием и тяжестью инфекционного процесса [45], необходимостью перевода в ОИТ [46]. Определялась динамика концентрации лептина в крови пациентов с COVID-19: пиковые значения отмечались в 1-е сут с постепенным снижением в течение следующих 28 сут болезни, что совпадало с динамикой уровня воспалительных биомаркеров интерлейкина (IL) -1 β и фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) [47].

Однако ряд исследователей, изучая патогенетическую роль лептина, не нашли статистически значимых ассоциаций уровня лептина ни со степенью тяжести заболевания, ни с факторами воспаления (С-реактивный белок (СРБ), IL-6) в крови пациентов [48], ни с необходимостью перевода пациентов с COVID-19 в ОИТ [25], а также с госпитальной смертностью [49]. Внимание исследователей было обращено и на то, что концентрация лептина была значительно выше у женщин, чем у мужчин, что подтверждает результаты других авторов, показавших гендерные особенности гиперлептинемии [50].

Адипонектин представляет собой полипептид, который в основном продуцируется подкожной жировой тканью и проявляет широкий спектр протективных эффектов: повышение чувствительности к инсулину, окисление жирных кислот в жировой ткани и свободных жирных кислот в скелетных мышцах, уменьшение высвобождения глюкозы из печени, повышение поглощения глюкозы и активация адипогенеза [51, 52]. Эффекты адипонектина реализуются через его рецепторы, которые обнаружены в жировой ткани, печени и скелетных мышцах [53, 54]. Уровень адипонектина повышается при снижении массы тела, на фоне приема противодиабетических препаратов, а при ожирении, инсулинорезистентности и при воспалительном процессе его секреция снижается [55]. Известно, что этот адипокин проявляет антиатеросклеротические эффекты, ингибируя

миграцию моноцитов/макрофагов в стенку сосуда и предотвращая образование пенистых клеток, обладает избирательным противовоспалительным действием [56]. Противовоспалительные эффекты адипонектина подтвердились отрицательными взаимосвязями его концентрации с уровнем ряда провоспалительных факторов и маркеров окислительного стресса [50, 57–59].

Научный интерес к роли адипонектина в патогенезе НКИ проявился большим числом публикаций. Часть исследований, в которых уровень адипонектина определяли однократно при поступлении, не показали его связи с тяжестью течения и с неблагоприятными исходами при COVID-19 [25, 48, 60, 61]. Итальянские исследователи обнаружили, что уровень адипонектина в сыворотке крови был статистически значимо ниже у госпитализированных пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми лицами; при этом пациенты обеих групп статистически значимо отличались по ИМТ, что может объяснить наблюдаемую разницу в концентрациях адипонектина. Также было отмечено, что высокомолекулярные олигомерные комплексы (HMW), считающиеся наиболее активной формой адипонектина, отрицательно коррелировали со степенью повреждения легких (по данным ультразвукового исследования, LUS score), тогда как сывороточные уровни адипонектина в целом не показали прогностической значимости в отношении неблагоприятных исходов у пациентов с COVID-19 [44].

Датскими исследователями показано, что уровень адипонектина у пациентов с внебольничной пневмонией различной этиологии, включая SARS-CoV-2, несмотря на более высокие значения воспалительных биомаркеров у пациентов с НКИ, статистически значимо не различался [62]. Специалистами University of Virginia School of Medicine (США) обнаружено, что пациенты с COVID-19, осложнившимся дыхательной недостаточностью, имели более низкие значения адипонектина в отличие от пациентов с дыхательной недостаточностью, ассоциированной с инфекциями другой этиологии [63]. Исследование, проведенное в рамках проекта CRACoV-HNS в Польше, включало оценку уровней адипонектина и других цитокинов у когорты пациентов с COVID-19 с разной степенью тяжести не только при поступлении, но и на 7-е, 28-е сут госпитализации. Тяжелое течение инфекции было ассоциировано с низкими значениями адипонектина на протяжении всего периода наблюдения, и повышением уровней воспалительных биомаркеров (TNF α , IL-1 β , PTX3) [47]. Голландские коллеги в многоцентровом проспективном исследовании обнаружили,

что у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 отмечались более низкие значения адипонектина [64].

В недавно опубликованном ретроспективном исследовании удвоение уровня циркулирующего адипонектина было связано со снижением вероятности 90-дневной смертности на 38% (отношение шансов (ОШ) 0,62; 95%-й доверительный интервал (95%-й ДИ) 0,43–0,89) и уменьшением риска развития дыхательной недостаточности на 40% (ОШ 0,60; 95%-й ДИ 0,42–0,86) [65]. Это отражает протективные и противовоспалительные свойства адипонектина, описанные ранее многими исследователями, и может служить поводом для продолжения исследований на более крупных когортах пациентов.

Резистин представляет собой протеин, преимущественно синтезируемый моноцитами и макрофагами [66]. В настоящее время резистин рассматривается как адипокин, участвующий в формировании инсулинорезистентности и воспалительных реакций [67]. Полагают, что резистин влияет на ожирение и гомеостаз инсулина через паракринные и эндокринные сигнальные пути. Резистин обладает провоспалительным эффектом, поскольку стимулирует экспрессию TNF- α и IL-6 мононуклеарными лейкоцитами [68], и его рассматривают в качестве маркера воспаления при атеросклерозе [69]. Изучение эффектов резистина у лиц с метаболическими нарушениями, включая ожирение, показало противоречивые результаты [70, 71].

В немногочисленных исследованиях, посвященных изучению роли резистина в патогенезе воспалительного ответа при COVID-19, он показал себя перспективным маркером, который можно рассматривать в качестве предиктора не только тяжести течения COVID-19, но и неблагоприятных исходов. Рядом исследователей обнаружено статистически значимое повышение уровня резистина в сыворотке крови у пациентов с COVID-19, который коррелировал с уровнем провоспалительных цитокинов, со степенью тяжести заболевания и частотой неблагоприятных исходов, включая летальность [44, 47, 61, 64, 72]. Уровень резистина был сопряжен с выраженностью клинических симптомов, потребностью в кислородотерапии и потребности в ИВЛ [73], а также был ассоциирован с худшим прогнозом COVID-19 и характеризовался как диагностически значимый предиктор для перевода пациентов в ОИТ [74].

Хемерин представляет собой белок, который синтезируется преимущественно гепатоцитами и адипоцитами. Интерес исследователей к этому адипокину проявился относительно недавно. Было установлено, что хемерин участвует в регуляции большого числа

биологических процессов: влияет на дифференцировку адипоцитов и регулирует адипогенез, гомеостаз глюкозы, онкогенез, воспаление, ангиогенез, миогенез и миграцию иммунокомпетентных клеток, выполняя роль хемоаттрактанта [75–79]. Вопрос о том, является ли хемерин про- или противовоспалительным белком, является предметом активных научных дискуссий, поскольку в исследованиях на культурах клеток и биологических моделях были получены противоречивые результаты [80, 81], что открывает перспективы для дальнейших фундаментальных исследований.

Имеющиеся в настоящее время исследования хемерина при COVID-19 также показывают неоднозначные результаты. Так, несмотря на то, что у пациентов с НКИ концентрация хемерина в сыворотке крови была значительно ниже, чем у здоровых людей, взаимосвязь с выраженностью клинических симптомов, тяжестью течения и необходимостью госпитализации в ОИТ не была установлена [82]. Польские ученые обратили внимание на то, что пациенты с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 имели максимально низкие концентрации хемерина в крови на 7-е сут, в то время как у пациентов с легким течением уровень хемерина не изменялся в течение всего периода наблюдения. Исследователи полагают, что снижение концентрации хемерина через неделю после появления симптомов может быть связано с активностью воспаления при тяжелом течении НКИ [47].

Бельгийскими исследователями получены противоположные результаты: концентрация хемерина в крови была значительно выше у пациентов, госпитализированных в ОИТ. При этом уровень хемерина был ассоциирован со степенью тяжести заболевания и положительно коррелировал с воспалительными биомаркерами, такими как СРБ и TNF- α . Логистическая одномерная регрессия и многофакторный анализ показали, что высокий уровень хемерина на 14-е сут госпитализации был независимым фактором риска смерти [83].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на большой интерес научного сообщества к изучению роли адипокинового дисбаланса в механизмах развития НКИ и значительное число публикаций, противоречивые результаты, связанные, в том числе, и с разным дизайном исследований, актуальность проблемы НКИ и необходимость поиска диагностически значимых предикторов неблагоприятных исходов открывают перспективы для дальнейших фундаментальных исследований в этой области. Глубокое понимание патогенеза данной инфекции с

позиций участия в нем адипокинового дисбаланса может лечь в основу разработки эффективных патогенетически обоснованных подходов к профилактике тяжелого течения и осложнений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J. et al. Novel coronavirus investigating and research team. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020;82(8):727–733. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017.
2. Горошко Н.В., Пацала С.В., Емельянова Е.К. Смертность трудоспособного населения России в условиях пандемии COVID-19. *Социальные аспекты здоровья населения.* 2022;68(5):1. DOI: 10.21045/2071-5021-2022-68-5-1.
3. Каштанова Е.В., Шахтштейнер Е.В., Кручинина М.В., Логвиненко И.И., Стрюкова Е.В., Рагино Ю.И. Биохимические, молекулярно-генетические и клинические аспекты COVID-2019. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021;20(1):147–157. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-1-147-157.
4. Trougakos I.P., Stamatelopoulou K., Terpos E., Tsitsilonis O.E., Aivalioti E., Paraskevis D. et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J. Biomed. Sci.* 2021;28(1):9. DOI: 10.1186/s12929-020-00703-5.
5. Беспалова И.Д., Бычков В.А., Калюжин В.В., Рязанцева Н.В., Медянцева Ю.А., Осихов И.А. и др. Качество жизни больных гипертонической болезнью с метаболическим синдромом: взаимосвязь с маркерами системного воспаления. *Бюллетень сибирской медицины.* 2013;12(6):5–11. DOI: 10.20538/1682-0363-2013-6-5-11.
6. Кыткова О.Ю., Антонюк М.В., Кантур Т.А., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К. Распространенность и биомаркеры метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм.* 2021;8(3):302–312. DOI: 10.14341/omet12704.
7. Fahed G., Aoun L., Bou Zerdan M., Allam S., Bou Zerdan M., Bouferraa Y. et al. Metabolic syndrome: updates on pathophysiology and management in 2021. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;(2):786. DOI: 10.3390/ijms23020786.
8. Petrilli C.M., Jones S.A., Yang J., Rajagopalan H., O'Donnell L., Chernyak Y. et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ.* 2020;369:m1966. DOI: 10.1136/bmj.m1966.
9. 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.
10. Denson J.L., Gillet A.S., Zu Y., Brown M., Pham T., Yoshida Y. et al. Society of Critical Care Medicine Discovery Viral Infection and Respiratory Illness Universal Study (VIRUS): COVID-19 Registry Investigator Group. Metabolic Syndrome and Acute Respiratory Distress Syndrome in Hospitalized Patients with COVID-19. *JAMA Netw. Open.* 2021;4(12):e2140568. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.40568.

11. Lohia P., Kapur S., Benjaram S., Pandey A., Mir T., Seyoum B. Metabolic syndrome and clinical outcomes in patients infected with COVID-19: Does age, sex, and race of the patient with metabolic syndrome matter? *J. Diabetes*. 2021;13(5):420–429. DOI: 10.1111/1753-0407.13157.
11. Mahamat-Saleh Y., Fiolet T., Rebeaud M.E., Mulot M., Guihur A., El Fatouhi D. et al. Diabetes, hypertension, body mass index, smoking and COVID-19-related mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ Open*. 2021;11(10):e052777. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-052777.
12. Yang J.K., Feng Y., Yuan M.Y., Yuan S.Y., Fu H.J., Wu B.Y. et al. Plasma glucose levels and diabetes are independent predictors for mortality and morbidity in patients with SARS. *Diabet. Med.* 2006;23(6):623–628. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2006.01861.x.
13. Barron E., Bakhai C., Kar P., Weaver A., Bradley D., Ismail H. et al. Associations of type 1 and type 2 diabetes with COVID-19-related mortality in England: a whole-population study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(10):813–822. DOI: 10.1016/S2213-8587(20)30272-2.
14. Woolcott O.O., Castilla-Bancayan J.P. The effect of age on the association between diabetes and mortality in adult patients with COVID-19 in Mexico. *Sci. Rep.* 2021;11(1):8386. DOI: 10.1038/s41598-021-88014-z.
15. Silverii G.A., Monami M., Cernigliaro A., Vigneri E., Guarnotta V., Scondotto S. et al. Are diabetes and its medications risk factors for the development of COVID-19? Data from a population-based study in Sicily. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2021;31(2):396–398. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.09.028.
16. Zhang J., Kong W., Xia P., Xu Y., Li L., Li Q. et al. Impaired fasting glucose and diabetes are related to higher risks of complications and mortality among patients with coronavirus disease 2019. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020;11:525. DOI: 10.3389/fendo.2020.00525.
17. Lazarus G., Audrey J., Wangsaputra V.K., Tamara A., Tahapary D.L. High admission blood glucose independently predicts poor prognosis in COVID-19 patients: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2021;171:108561. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108561.
18. Yang Y., Cai Z., Zhang J. Hyperglycemia at admission is a strong predictor of mortality and severe/critical complications in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2021;41(2):BSR20203584. DOI: 10.1042/BSR20203584.
19. Praticchizzo F., de Candia P., Nicolucci A., Ceriello A. Elevated HbA1c levels in pre-Covid-19 infection increases the risk of mortality: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2022;38(1):e3476. DOI: 10.1002/dmrr.3476.
20. Gallo G., Calvez V., Savoia C. Hypertension and COVID-19: current evidence and perspectives. *High Blood Press Cardiovasc. Prev.* 2022;29(2):115–123. DOI: 10.1007/s40292-022-00506-9.
21. Hu X., Chen D., Wu L., He G., Ye W. Declined serum high density lipoprotein cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. *Clin. Chim. Acta.* 2020;510:105–110. DOI: 10.1016/j.cca.2020.07.015.
22. Fan J., Wang H., Ye G., Cao X., Xu X., Tan W. et al. Letter to the editor: low-density lipoprotein is a potential predictor of poor prognosis in patients with coronavirus disease 2019. *Metabolism*. 2020;107:154243. DOI: 10.1016/j.metabol.2020.154243.
23. Wei X., Zeng W., Su J., Wan H., Yu X., Cao X. et al. Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19. *J. Clin. Lipidol.* 2020;14(3):297–304. DOI: 10.1016/j.jacl.2020.04.008.
24. Minuzzi L.G., Seelaender M., Silva B.S.A., Cunha E.D.B.B., Deus M.C., Vasconcellos F.T.F. et al. COVID-19 outcome relates with circulating BDNF, according to patient adiposity and age. *Front. Nutr.* 2021;8:784429. DOI: 10.3389/fnut.2021.784429.
25. Liu Y., Pan Y., Yin Y., Chen W., Li X. Association of dyslipidemia with the severity and mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Virology*. 2021;18(1):157. DOI: 10.1186/s12985-021-01604-1.
26. Zuin M., Rigatelli G., Bilato C., Cervellati C., Zuliani G., Roncon L. Dyslipidaemia and mortality in COVID-19 patients: a meta-analysis. *QJM*. 2021;114(6):390–397. DOI: 10.1093/qjmed/hcab071.
27. Louie J.K., Acosta M., Samuel M.C., Schechter R., Vugia D.J., Harriman K. et al. California Pandemic (H1N1) Working Group. A novel risk factor for a novel virus: obesity and 2009 pandemic influenza A (H1N1). *Clin. Infect. Dis.* 2011;52(3):301–312. DOI: 10.1093/cid/ciq152.
28. Martín V., Castilla J., Godoy P., Delgado-Rodríguez M., Soldevila N., Fernández-Villa T. et al. Grupo de Trabajo del Proyecto CIBERESP de Casos y Controles sobre la Gripe Pandémica, España. High Body Mass Index as a Risk Factor for Hospitalization Due to Influenza: A Case-Control Study. *Arch. Bronconeumol.* 2016;52(6):299–307. DOI: 10.1016/j.arbres.2015.11.006.
29. Díaz E., Rodríguez A., Martín-Loeches I., Lorente L., Del Mar Martín M., Pozo J.C. et al. H1N1 SEMICYUC Working Group. Impact of obesity in patients infected with 2009 influenza A(H1N1). *Chest*. 2011;139(2):382–386. DOI: 10.1378/chest.10-1160.
30. Simonnet A., Chetboun M., Poissy J., Raverdy V., Noulette J., Duhamel A. et al. LICORN and the Lille COVID-19 and Obesity study group. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity (Silver Spring)*. 2020;28(7):1195–1199. DOI: 10.1002/oby.22831.
31. Biscarini S., Colaneri M., Ludovisi S., Seminari E., Pieri T.C., Valsecchi P. et al. The obesity paradox: Analysis from the SMAteo COvid-19 REgistry (SMACORE) cohort. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2020;30(11):1920–1925. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.07.047.
32. Bellini B., Cresci B., Cosentino C., Profili F., Bartolacci S., Scoccimarro D. et al. Obesity as a risk factor for hospitalization in COronaVirus Disease-19 (COVID-19) patients: analysis of the Tuscany regional database. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2021;31(3):769–773. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.11.030.
33. Van der Voort P.H.J., Moser J., Zandstra D.F., Muller Koldbold A.C., Knoester M., Calkhoven C.F. et al. Leptin lev-

- els in SARS-CoV-2 infection related respiratory failure: A cross-sectional study and a pathophysiological framework on the role of fat tissue. *Heliyon*. 2020;6(8):e04696. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04696.
34. Andersen A.L., Gribsholt S.B., Pedersen L., Thomsen R.W., Benfield T.L., Søgaard O. et al. The impact of age and obesity on outcomes among patients hospitalized with COVID-19 in Denmark: A nationwide cohort study. *Obes. Sci. Pract.* 2023;9(4):355–363. DOI: 10.1002/osp4.659.
 35. Huang Y., Lu Y., Huang Y.M., Wang M., Ling W., Sui Y. et al. Obesity in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2020;113:154378. DOI: 10.1016/j.metabol.2020.154378.
 36. Tilg H., Moschen A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2006;6:772–783. DOI: 10.1038/nri1937.
 37. Hornung F., Rogal J., Loskill P., Löffler B., Deinhardt-Emmer S. The inflammatory profile of obesity and the role on pulmonary bacterial and viral infections. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3456. DOI: 10.3390/ijms22073456.
 38. Klok M.D., Jakobsdottir S., Drent M.L. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* 2007;8:21–34. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x.
 39. Ahima R.S., Flier J.S. Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 2000;62:413–437. DOI: 10.1146/annurev.physiol.62.1.413.
 40. Zakrzewska K.E., Cusin I., Sainsbury A., Rohner-Jeanrenaud F., Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: Toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes*. 1997;46:717–719. DOI: 10.2337/diab.46.4.717.
 41. Беспалова И.Д. Лептин как индуктор воспаления и окислительного стресса при метаболическом синдроме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014;13(1):20–26. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-1-20-26.
 42. Беспалова И.Д., Калюжин В.В., Мурашев Б.Ю., Осихов И.А., Кошавцева Ю.И., Тетенева А.В., Романов Д.С., Страшкова У.М. Субпопуляционный состав и прооксидантная активность клеток висцеральной жировой ткани пациенток с метаболическим синдромом. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2022;37(3):114–120. DOI: 10.29001/2073-8552-2022-37-3-114-120.
 43. Perrotta F., Scialò F., Mallardo M., Signoriello G., D’Agnano V., Bianco A. et al. Adiponectin, leptin, and resistin are dysregulated in patients infected by SARS-CoV-2. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(2):1131. DOI: 10.3390/ijms24021131.
 44. Wang J., Xu Y., Zhang X., Wang S., Peng Z., Guo J. et al. Leptin correlates with monocytes activation and severe condition in COVID-19 patients. *JLB*. 2021;110(1):9–20. DOI: 10.1002/JLB.5HI1020-704R.
 45. Larsson A., Lipsey M., Hultström M., Frithiof R., Eriksson M. Plasma leptin is increased in intensive care patients with COVID-19-an investigation performed in the PronMed-Cohort. *Biomedicines*. 2021;10(1):4. DOI: 10.3390/biomedicines10010004.
 46. Sulicka-Grodzicka J., Surdacki A., Surmiak M., Sanak M., Wizner B., Sydor W. et al. Chemerin as a potential marker of resolution of inflammation in COVID-19 infection. *Biomedicines*. 2022;10(10):2462. DOI: 10.3390/biomedicines10102462.
 47. Di Filippo L., De Lorenzo R., Sciorati C., Capobianco A., Lorè N.I., Giustina A. et al. Adiponectin to leptin ratio reflects inflammatory burden and survival in COVID-19. *Diabetes Metab.* 2021;47(6):101268. DOI: 10.1016/j.diabet.2021.101268.
 48. Beltrão F.E.L., Beltrão D.C.A., Carvalhal G., Beltrão F.N.L., de Aquino I.M., Brito T.D.S. et al. Low muscle mass and high visceral fat mass predict mortality in patients hospitalized with moderate-to-severe COVID-19: a prospective study. *Endocr. Connect.* 2022;11(10):e220290. DOI: 10.1530/EC-22-0290.
 49. Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калюжин В.В., Осихов И.А., Мурашев Б.Ю., Медянцева Ю.А. и др. Гендерные особенности взаимосвязи гормональной активности жировой ткани и провоспалительного статуса при гипертонической болезни с метаболическим синдромом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014;13(5):12–19. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-5-12-19.
 50. Coelho M., Oliveira T., Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. *Arch. Med. Sci.* 2013;9:191. DOI: 10.5114/aoms.2013.33181.
 51. Lenz A., Diamond F.B. Jr. Obesity: The hormonal milieu. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2008;15:9–20. DOI: 10.1097/MED.0b013e3282f43a5b.
 52. Lago F., Gómez R., Gómez-Reino J.J., Dieguez C., Gualillo O. Adipokines as novel modulators of lipid metabolism. *Trends Biochem. Sci.* 2009;34:500–510. DOI: 10.1016/j.tibs.2009.06.008.
 53. Bray G.A., Clearfield M.B., Fintel D.J., Nelinson D.S. Overweight and obesity: The pathogenesis of cardiometabolic risk. *Clin. Cornerstone*. 2009;9:30–42. DOI: 10.1016/S1098-3597(09)80003-3.
 54. Yamauchi T., Kadowaki T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell Metab.* 2013;17:185–196. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.01.001.
 55. De Oliveira Leal V., Mafra D. Adipokines in obesity. *Clin. Chimica Acta*. 2013;419:87–94. DOI: 10.1016/j.cca.2013.02.003.
 56. Hosogai N., Fukuhara A., Oshima K., Miyata Y., Tanaka S., Segawa K. et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*. 2007;56:901–911. DOI: 10.2337/db06-0911.
 57. Ouchi N., Kihara S., Funahashi T., Matsuzawa Y., Walsh K. Obesity, Adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr. Opin. Lipidol.* 2003;14:561–566. DOI: 10.1097/00041433-200312000-00003.
 58. Anandaraj A.A., Syed Ismail P.M., Namis S.M., Bajnaid Y.J., Shetty S.B., Almutairi K.M. Association of selected adipocytokines and inflammatory markers on body mass index in type 2 diabetes patients in Saudi Arabia and as risk factors to cardiovascular disease. *Curr. Diabetes Rev.* 2017;13:330–335. DOI: 10.2174/1573399812666160614014254.
 59. Caterino M., Gelzo M., Sol S., Fedele R., Annunziata A., Calabrese C. et al. Dysregulation of lipid metabolism and pathological inflammation in patients with COVID-19. *Sci. Rep.* 2021;11(1):2941. DOI: 10.1038/s41598-021-82426-7.
 60. De Nooijer A.H., Kooistra E.J., Grondman I., Janssen N.A.F.,

- Joosten L.A.B., van de Veerdonk F.L. et al. RCI-COVID-19 study group. Adipocytokine plasma concentrations reflect influence of inflammation but not body mass index (BMI) on clinical outcomes of COVID-19 patients: A prospective observational study from the Netherlands. *Clin. Obes.* 2023;13(2):e12568. DOI: 10.1111/cob.12568.
61. Ryrso C.K., Dungu A.M., Hegelund M.H., Jensen A.V., Sejdic A., Faurholt-Jepsen D. et al. Body composition, physical capacity, and immuno-metabolic profile in community-acquired pneumonia caused by COVID-19, influenza, and bacteria: a prospective cohort study. *Int. J. Obes. (London)*. 2022;46(4):817–824. DOI: 10.1038/s41366-021-01057-0.
62. Kearns S.M., Ahern K.W., Patrie J.T., Horton W.B., Harris T.E., Kadl A. Reduced adiponectin levels in patients with COVID-19 acute respiratory failure: A case-control study. *Physiol. Rep.* 2021;9(7):e14843. DOI: 10.14814/phy2.14843.
63. Flikweert A.W., Kobold A.C.M., van der Sar-van der Brugge S., Heeringa P., Rodenhuis-Zybert I.A., Bijzet J. et al. Circulating adipokine levels and COVID-19 severity in hospitalized patients. *Int. J. Obes. (London)*. 2023;47(2):126–137. DOI: 10.1038/s41366-022-01246-5.
64. Hindsberger B., Lindegaard B., Rabøl Andersen L., Bastrop Israelsen S., Pedersen L., Bela Szecsi P. et al. Circulating adiponectin levels are inversely associated with mortality and respiratory failure in patients hospitalized with COVID-19. *Int. J. Endocrinol.* 2023;2023:4427873. DOI: 10.1155/2023/4427873.
65. Park H.K., Ahima R.S. Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab. J.* 2013;37:404–414. DOI: 10.4093/dmj.2013.37.6.404.
66. Schwartz D.R., Lazar M.A. Human resistin: Found in translation from mouse to man. *Trends Endocrinol. Metab.* 2011;22:259–265. DOI: 10.1016/j.tem.2011.03.005.
67. Bokarewa M., Nagaev I., Dahlberg L., Smith U., Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J. Immunol.* 2005;174:5789–5795. DOI: 10.4049/jimmunol.174.9.5789.
68. Khera A.V., Qamar A., Murphy S.A., Cannon C.P., Sabatine M.S., Rader D.J. On-Statins Resistin, Leptin, and Risk of Recurrent Coronary Events After Hospitalization for an Acute Coronary Syndrome (from the Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Study). *Am. J. Cardiol.* 2015;116:694–698. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.05.038.
69. Bik W., Ostrowski J., Baranowska-Bik A., Wolinska-Witort E., Bialkowska M., Martynska L. et al. Adipokines and genetic factors in overweight or obese but metabolically healthy Polish women. *Neuroendocrinol. Lett.* 2010;31:497–506.
70. Telle-Hansen V., Halvorsen B., Dalen K., Narverud I., Wesselt-Rao N., Granlund L. et al. Altered expression of genes involved in lipid metabolism in obese subjects with unfavourable phenotype. *Genes Nutr.* 2013;8:425–434. DOI: 10.1007/s12263-012-0329-z.
71. Ebihara T., Matsumoto H., Matsubara T., Togami Y., Nakao S., Matsuura H. et al. Resistin associated with cytokines and endothelial cell adhesion molecules is related to worse outcome in COVID-19. *Front. Immunol.* 2022;13:830061. DOI: 10.3389/fimmu.2022.830061.
72. Perpiñan C., Bertran L., Terra X., Aguilar C., Binetti J., Lopez-Dupla M. et al. On Behalf Of Covid-Study Group. Resistin and IL-15 as Predictors of Invasive Mechanical Ventilation in COVID-19 Pneumonia Irrespective of the Presence of Obesity and Metabolic Syndrome. *J. Pers. Med.* 2022;12(3):391. DOI: 10.3390/jpm12030391.
73. Meizlish M.L., Pine A.B., Bishai J.D., Goshua G., Nadelmann E.R., Simonov M. et al. A neutrophil activation signature predicts critical illness and mortality in COVID-19. *Blood Adv.* 2021;5(5):1164–1177. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003568.
74. Zabel B.A., Allen S.J., Kulig P., Allen J.A., Cichy J., Handel T.M. et al. Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades. *J. Biol. Chem.* 2005;280:34661–34666. DOI: 10.1074/jbc.M504868200.
75. Treeck O., Buechler C., Ortmann O. Chemerin and cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:3750. DOI: 10.3390/ijms20153750.
76. Buechler C., Feder S., Haberl E.M., Aslanidis C. Chemerin isoforms and activity in obesity. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:1128. DOI: 10.3390/ijms20051128.
77. Ernst M.C., Sinal C.J. Chemerin: At the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol. Metab.* 2010;21:660–667. DOI: 10.1016/j.tem.2010.08.001.
78. Rourke J.L., Dranse H.J., Sinal C.J. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obes. Rev.* 2013;14:245–262. DOI: 10.1111/obr.12009.
79. Yoshimura T., Oppenheim J.J. Chemerin reveals its chimeric nature. *J. Exp. Med.* 2008;205:2187–2190. DOI: 10.1084/jem.20081736.
80. Bondue B., Wittamer V., Parmentier M. Chemerin and its receptors in leukocyte trafficking, inflammation and metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22:331–338. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2011.11.004.
81. Kukla M., Menzyk T., Dembiński M., Winiarski M., Garlicki A., Bociąga-Jasik M. et al. Anti-inflammatory adipokines: chemerin, vaspin, omentin concentrations and SARS-CoV-2 outcomes. *Sci. Rep.* 2021;11(1):21514. DOI: 10.1038/s41598-021-00928-w.
82. Lavis P., Morra S., Orte Cano C., Albayrak N., Corbière V., Olislagers V. et al. Chemerin plasma levels are increased in COVID-19 patients and are an independent risk factor of mortality. *Front. Immunol.* 2022 13: 41663. DOI: 10.3389/fimmu.2022.941663.

Информация об авторах

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>

Митриченко Ульяна Михайловна – аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, strashkovaum@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6091-4849>

Калужин 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>

Королева Екатерина Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск, kattorina@list.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1911-166X>

Кошавцева Юлия Игоревна – ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, kossy09@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5260-4832>

Романов Дмитрий Сергеевич – аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, romanovds92@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0002-2028-4963>

Першина Диана Евгеньевна – студентка, педиатрический факультет, СибГМУ, г. Томск, dianapershina2000@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3202-4579>

(✉) **Беспалова Инна Давидовна**, innadave@mail2000.ru

Поступила в редакцию 18.05.2023;
одобрена после рецензирования 23.05.2023;
принята к публикации 25.05.2023

Липидомные маркеры ожирения и их динамика после бариатрических операций

Саприна Т.В.¹, Баширова А.С.¹, Иванов В.В.¹, Пеков С.И.^{1,2,3}, Попов И.А.^{1,3},
Баширов С.Р.¹, Васильева Е.А.¹, Павленко О.А.¹, Криницкий Д.В.¹, Чэнь М.¹

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

² Сколковский институт науки и технологий
Россия, 121205, г. Москва, Большой бульвар 30, стр. 1

³ Московский физико-технический институт (МФТИ)
Россия, 115184, г. Москва, Климентовский пер., 1 стр. 1

РЕЗЮМЕ

Ожирение рассматривается как хроническое прогрессирующее заболевание, гетерогенное по своей этиологии и клиническим проявлениям, характеризующееся избыточным и отложением жировой массы в организме. Под термином «морбидное ожирение» понимают избыточное отложение жировой ткани с индексом массы тела (ИМТ) ≥ 40 кг/м² или с ИМТ ≥ 35 кг/м² при наличии серьезных осложнений, связанных с ожирением. Одновременно с ожирением возросла частота тесно ассоциированных с ним сахарного диабета второго типа и сердечно-сосудистых заболеваний, представляющих собой итог прогрессирования метаболических нарушений, в том числе инсулинорезистентности, которая неразрывно связана с накоплением висцерального жира и играет ключевую роль в патогенезе сопряженных с ожирением заболеваний.

Исследование липидомных сигнатур при ожирении и ассоциированных с ним состояний – перспективный раздел фундаментальной медицины, позволяющий существенно и на новом понятийном уровне стратифицировать когорту пациентов с ожирением на различные фенотипы, в том числе на метаболически здоровый и нездоровый фенотип. Динамические изменения липидома, как на фоне диетических воздействий, медикаментозного лечения, так и после различных бариатрических операций, также интересны с точки зрения разработки персонализированных стратегий лечения данного заболевания. Имеющиеся на данный момент исследования и их результаты позволяют считать, что мы находимся только в самом начале этого перспективного биомедицинского направления.

Ключевые слова: ожирение, масс-спектрометрия, метаболические профилирование, липидом, липиды, клинические маркеры, биомаркеры, бариатрия

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: Саприна Т.В., Баширова А.С., Иванов В.В., Пеков С.И., Попов И.А., Баширов С.Р., Васильева Е.А., Павленко О.А., Криницкий Д.В., Чэнь М. Липидомные маркеры ожирения и их динамика после бариатрических операций. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):174–187. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-174-187>.

✉ Саприна Татьяна Владимировна, tanja.v.saprina@mail.ru

Lipidomic markers of obesity and their dynamics after bariatric surgery

Saprina T.V.¹, Bashirova A.S.¹, Ivanov V.V.¹, Pekov S.I.^{1,2,3}, Popov I.A.^{1,3}, Bashirov S.R.¹, Vasilyeva E.A.¹, Pavlenko O.A.¹, Krinitskii D.V.¹, Chen M.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Skolkovo Institute of Science and Technology
30, Bolshoy Boulevard, Bld. 1, Moscow, 121205, Russian Federation

³ Moscow Institute of Physics and Technology
1, Klimentovskiy Str., Bld. 1, Moscow, 115184, Russian Federation

ABSTRACT

Obesity is considered as a chronic progressive disease, heterogeneous in its etiology and clinical manifestations, and characterized by excess in body fat mass and its deposition in the body. The term “morbid obesity” refers to excessive deposition of adipose tissue with a body mass index (BMI) ≥ 40 kg / m² or with a BMI ≥ 35 kg / m² in the presence of serious complications associated with obesity. Along with obesity, the frequency of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases closely associated with it has increased. It results from the progression of metabolic disorders, including insulin resistance, which is inextricably linked with the accumulation of visceral fat and plays a key role in the pathogenesis of obesity-related diseases.

The study of lipidomic signatures in obesity and associated conditions is a promising branch of fundamental medicine, which makes it possible to significantly and at a new conceptual level stratify a cohort of obese patients into various phenotypes, including a metabolically healthy and metabolically unhealthy obesity phenotypes. Dynamic changes in the lipidome both in the context of diet, drug treatment, and after various bariatric surgeries are of great interest for developing personalized strategies for the treatment of this disease. Currently available studies and their results suggest that we are only at the very start of studying this promising biomedical field.

Keywords: obesity, mass spectrometry, metabolic profiling, lipidome, lipids, clinical markers, biomarkers, bariatric surgery

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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: Saprina T.V., Bashirova A.S., Ivanov V.V., Pekov S.I., Popov I.A., Bashirov S.R., Vasilyeva E.A., Pavlenko O.A., Krinitskii D.V., Chen M. Lipidomic markers of obesity and their dynamics after bariatric surgery. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):174–187. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-174-187>.

ВВЕДЕНИЕ

По опубликованным в 2021 г. сведениям Всемирной организации здравоохранения, более 1,9 млрд взрослых старше 18 лет имеют избыточную массу тела, из них свыше 650 млн страдают ожирением. В России, по данным на конец 2016 г., зарегистрировано 23,5 млн лиц с ожирением, что составляет 16% населения [1].

Ожирение рассматривается как хроническое прогрессирующее заболевание, гетерогенное по своей этиологии и клиническим проявлениям, характеризующееся избыточным и отложением жировой

массы в организме. Под термином «морбидное ожирение» понимают избыточное отложение жировой ткани с индексом массы тела (ИМТ) ≥ 40 кг/м² или с ИМТ ≥ 35 кг/м² при наличии серьезных осложнений, связанных с ожирением.

Одновременно с ожирением возросла частота тесно ассоциированных с ним сахарного диабета второго типа (СД2) и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), представляющих собой итог прогрессирования метаболических нарушений, в том числе инсулинорезистентности, которая неразрывно связана с накоплением висцерального жира и играет ключевую роль в патогенезе сопряженных с ожирением заболеваний [2, 3].

Для контроля над пандемией ожирения в XXI в. необходимо разрабатывать не только эффективные методы лечения, но и уделять внимание всесторонним исследованиям, направленным на поиск метаболических маркеров и предикторов развития патологических состояний, ассоциированных с ожирением, таких как предиабет и СД2, артериальная гипертензия, дислипидемия, неалкогольная жировая болезнь печени с прогрессией до стадии фиброза и цирроза, бесплодие и рак.

Важнейшие подходы современной медицины развиваются в рамках философской парадигмы, в которой основным направлением является переход от классической клинической диагностики к персонализированному регулярному мониторингу состояния здоровья для построения прогнозов, содержащих оценку рисков развития как новых заболеваний, так и специфических осложнений.

В лечении ожирения и метаболического синдрома на сегодняшний момент не существует единого подхода, который дает возможность в должной мере сформировать универсальный метод персонализированного мониторинга, позволяющего спрогнозировать развитие ожирения на основе информации о генетической предрасположенности и факторов риска для конкретного пациента. Ожирение в рутинной клинической практике диагностируется путем оценки ИМТ, который рассчитывается как соотношение массы тела (кг) и роста в квадрате (m^2), что позволяет врачам классифицировать людей от ожирения первой степени до суперожирения. По большей части ИМТ лишь косвенно оценивает риски, связанные с ожирением. Оценка объема талии отражает чуть в большей степени биологическую причину жировых отложений, резистентность к инсулину и ангиогенез жировой ткани, тем не менее полностью не характеризует все его метаболические особенности.

Оценка компонентного состава тела человека благодаря анализу биоэлектрического импеданса и двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии не является объективной для сравнения липотоксичности тканей разной топологии. Такая диагностика не способна оценить метаболические изменения при ожирении, ведь у пациентов экспрессия многих генов, связанных с клеточным метаболизмом и продукцией адипокинов, значительно изменяется, соответственно, достоверно разделить когорту лиц, имеющих избыточную массу тела, а также имеющих нормальный ИМТ, на метаболически здоровый и нездоровый фенотипы только с помощью существующих инструментов и подходов в настоящее время не представляется возможным.

ОМИКА

В современной медицине интенсивно развивается направление омических исследований. Метаболомный анализ, являющийся одним из самых перспективных направлений молекулярных методов в области системной биологии, дает возможность оценить структуру и дать количественную характеристику молекул, которые могут служить продуктами или субстратами ферментативных реакций, участвующих в физиологических и патофизиологических процессах.

Метаболомика является технологическим инструментом контроля общего состояния пациента и стратификации риска возможных метаболических нарушений. Это уникальный способ для определения метаболического отпечатка пальца (метаболомных сигнатур) узнаваемой химической картины, специфичной для конкретной выборки.

Клиническая липидомика является разделом метаболомтики, основной аналитический инструмент которого – хромато-масс-спектрометрия. Из-за широкого аналитического охвата липидов вместе с высокой чувствительностью и молекулярной специфичностью становится возможным зафиксировать дисбаланс липидов в измененных клеточных мембранах и липидных каплях, в том числе и на этапе ранней диагностики клинически невыраженных состояний [4, 5].

Основное внимание этого обзора уделяется липидомике – идентификации количественного и качественного состава липидов в разных биологических средах. У здорового человека липидный обмен находится в балансе, но различные триггерные факторы способны изменить гомеостаз. Информация, представленная в обзоре, касается исследований липидома в разрезе особенностей ожирения и его осложнений.

Для интерпретации результатов, а также для сопоставления данных с другими уровнями биологической информации необходима аннотация липидов. Наиболее современная и ежегодно пополняемая номенклатура разработана консорциумом LIPID MAPS [6], она удобна для аннотирования данных, полученных с помощью масс-спектрометрии. База данных липидных структур разделена на основные восемь групп:

- жирные ацилиты (FA), включающие жирные кислоты (ЖК), эйкозаноиды, жирные спирты, альдегиды, эфиры, ацилкарнитины, ацил-КоА, эфиры воска и др.;
- глицеролипиды (GL);
- глицерофосфолипиды (GP), включающие глицерофосфохолины (PC);

- глицерофосфоэтаноламины (PE), глицерофосфосерины (PS), глицерофосфоглицерофосфаты (PG), глицерофосфоинозитол (PI), глицерофосфаты (PA);
- сфинголипиды (SP), включающие церамиды, ацилцерамиды, сфингомиелины, сфингозин и др.;
- стероловые липиды (ST). Большая часть холестерина в плазме этерифицирована. Среди холестериновых эфиров (CE) плазмы человека CE (18:2) и CE (20:4) вносят основной фракцион – преноловые липиды (PR). Двумя основными преноловыми липидами в плазме являются долихол и убихинон;
- сахаролипиды (SL);
- поликетиды (PK).

ЛИПИДОМНЫЕ МАРКЕРЫ КРОВИ ПРИ ОЖИРЕНИИ

Жирные кислоты

Молекулярные механизмы, лежащие в основе липотоксичности, включают стресс эндоплазматического ретикулума, окислительный стресс, дисфункцию митохондрий, нарушение аутофагии и воспаление [7]. Относительная гипоксия жировой ткани также является фактором ее дисфункции. Синтез жирных кислот в адипоцитах активируется сигналами, вызванными фактором гипоксии (HIF). Карнитин пальмитоилтрансфераза 1 (CPT1) подавляется HIF, уменьшая транспорт жирных кислот в митохондрии и направляя ЖК в липидные капли для хранения. Увеличение количества капель в клетках связано с увеличением липотоксичности и изменением метаболизма, что способствует дальнейшей клеточной дисфункции жировой ткани.

При нарушениях обмена веществ промежуточные продукты метаболизма липидов накапливаются внутриклеточно, что приводит к клеточной дисфункции и апоптозу клеток различных тканей, включая почки, мозг, скелетные мышцы и сердце. Промежуточные продукты липидного метаболизма, такие как церамиды, диацилглицериды и ацилкарнитины, являются дизрапторами внутриклеточных сигнальных каскадов и в значительной степени считаются токсичными сигнальными липидными молекулами.

Считается, что насыщенные жирные кислоты особенно вредны для всех типов клеток за счет индукции широкого спектра нежелательных клеточных реакций: апоптоза, воспаления, накопления активных молекул кислорода и окислительного стресса [8]. Короткоцепочечные жирные кислоты, включая ацетат, бутират и пропионат, ингибируют липолиз и способствуют адипогенезу в висцеральной жировой ткани, поскольку являются субстратами для синтеза глюкозы и липидов. Они действуют на сопряженные с G-белком рецепторы, что приводит к ингибированию

липолиза и снижению уровня свободных ЖК в плазме [9]. Короткоцепочечные жирные кислоты имеют не более шести атомов углерода, являются основными метаболитами микробиоты кишечника, современными данными подтверждается их роль в качестве биомаркеров центрального ожирения [10].

Метаанализ рандомизированных клинических исследований при ожирении [11] показал характерную картину липидного профиля при данном заболевании – увеличение пальмитовых, пальмитолеиновых, стеариновых и олеиновых кислот, а также стеариоилкарнитина [12]. Также при ожирении определен характер нарушений в структуре триацилглицеролов (ТАГ) – более короткая длина углеродной цепи и меньшее количество двойных связей были связаны с более высоким ИМТ, в то время как относительно длинная ацильная цепь и большее количество двойных связей были связаны с более низким ИМТ [13].

В перекрестном исследовании с участием 1 443 испанских женщин показано, что с увеличением ИМТ в фосфолипидной фракции сыворотки крови возрастает относительная концентрация общих насыщенных ЖК, а также пальмитолеиновой, дигомо- γ -линоленовой, арахидоновой и α -линоленовой кислот, при этом снижается концентрация олеиновой, гондоевой, транс-вакценовой, линолевой и γ -линоленовой кислот [14]. У пациентов с метаболическим синдромом повышены плазменные уровни C16:0, C18:0, C21:0, C16:1, C18:1, C18:2, C18:3n6, C20:3n6, C20:4n6, C22:4n6, C22:5n6 [15], а также молочная и бета-гидроксимасляная кислоты [16].

Таким образом, увеличение уровня насыщенных ЖК относительно ненасыщенных ЖК плазмы соотносится с трендом увеличения ИМТ. Интригующими выглядят результаты исследований ЖК из тканей, поскольку соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК во фракции ТАГ из висцеральной и подкожной жировой ткани уменьшалось у пациентов с метаболическим синдромом, а в группе контроля, наоборот, было более высоким [17].

Содержание свободных жирных кислот (C14:0, C18:1, C20:2, C20:3, C20:5 и C22:6) было значительно увеличено как при ожирении, так при СД2, а уровень C22:6 был определен как независимый фактор риска СД2 [18]. Другой метаанализ липидомных исследований плазмы при ожирении показал связь более высокой концентрации циркулирующих ЖК 20:0, 22:0 и 24:0 с более низким риском СД2 [19].

Ацилкарнитины

Бета-окисление внутриклеточно депонированных липидов приводит к производству ацетил-КоА путем окислительной деградации ЖК. Ацетил-КоА

образуется в результате каждого цикла β -окисления, может впоследствии включаться в цикл трикарбоновых кислот для генерации NADH и FADH₂ для цепи переноса электронов и продукции АТФ [20].

В результате перенасыщения клетки ЖК и перегрузки ими митохондрий развивается неполное β -окисление ЖК и накопление в клетке эфиров карнитина и жирных кислот – ацилкарнитина, что и было показано для пациентов с ожирением и СД2 [21]. Также для лиц с ожирением специфично накопление широкого спектра ацилкарнитинов с четным количеством углеродных атомов (от C6 до C22) [22].

Снижение окисления ЖК ведет к повышению уровня циркулирующих липидов, что еще больше увеличивает окислительный стресс. Поэтому ацилкарнитин (C 18:2) отрицательно связан с фенотипом метаболически здорового ожирения [23] и положительно – с увеличением ИМТ [24]. Накопление ацилкарнитина связано с повышением резистентности к инсулину у пациентов с ожирением и развитием более высокого риска ССЗ [25, 26].

Подтверждают гипотезу ассоциации нарастающего сердечно-сосудистого риска с накоплением ацилкарнитинов – выявление высоких уровней короткоцепочечных ацилкарнитинов (C2, C3, C4DC), свободного карнитина (C0) и длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16, C18OH) у лиц с метаболическим синдромом [27]. В метаанализе 2020 г. с высокой степенью доказательности установлена аналогичная закономерность – повышение концентрации ацилкарнитина (14:2) с увеличением возраста и ИМТ пациентов [28].

Сфинголипиды

Исследования последних десяти лет пролили свет на роль изменений в липидном метаболизме, а именно биоактивных сфинголипидов в развитии ожирения и ассоциированных с ним осложнений. Для ожирения характерно снижение сфингомиелина [29] и повышение синтеза церамидов за счет стимуляции так называемого пути спасения, что приводит к производству церамидов через катаболизм гексозилцерамидов [30].

Длинноцепочечные насыщенные незтерифицированные жирные кислоты являются главным источником синтеза церамидов (пальмитиновая участвует в синтезе церамида C16:0, стеариновая C18:0, арахидоновая C20:0 и линоцериновая C24:0). Повышенное содержание субстрата – длинноцепочечных насыщенных ЖК – способствует повышенному синтезу церамидов и их накоплению в клетке. Как известно, наиболее патогенным потенциалом обладает C16:0-церамид [31].

В развитии заболевания имеет значение, где идет накопление церамидов: конкретная внутриклеточная локализация или накопление церамидов в конкретных пулах, а не общая масса церамидов в жировой ткани. Так, например, увеличение содержания церамидов в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме и ядре обратно коррелировало с трансдукцией инсулинового сигнала, в то время как накопление церамидов в цитозольной фракции не оказывало влияние на инсулиновую сигнализацию [32].

Крупнейшее популяционное исследование сфинголипида плазмы под руководством W.S. Chew в 2019 г. выявило положительную корреляцию содержания церамидов с ИМТ, но отрицательную с уровнем гексозилцерамидов [33]. Это подтвердили и другие исследования, в которых было показано, что содержание сфингомиелинов, наоборот, обратно связано с индексом талия/бедро и ИМТ [34, 35].

В исследовании J.M. Weir и соавт. выявлена сильная специфическая взаимосвязь между содержанием церамида 18:0 и ИМТ, а также повышение всех видов дигидроцерамидов у пациентов с ожирением [36]. Эти данные также подтверждает другое более свежее исследование в большой популяционной когорте с использованием целевого липидного подхода, в которых установлено, что уровни Cer (18:1/18:0) и Cer (18:1/20:0) увеличивались пропорционально ИМТ [28]. Одновременно с этим V.H. Telle-Hansen и соавт. и его научная группа не обнаружили значимых различий в уровнях сфингомиелинов в плазме пациентов с метаболически здоровым и нездоровым ожирением [30].

Метаанализ 2020 г. описывает положительную ассоциацию возраста человека с содержанием церамидов C18:1/21:0 [28]. При изучении липидного профиля сыворотки крови у детей с абдоминальным ожирением показано, что повышенное содержание сфингомиелина (d21:1) связано с центральным ожирением и может опосредовать связь между брюшным ожирением и дисрегуляцией гомеостаза глюкозы [37].

Фосфолипиды

Данные об изменениях метаболизма группы глицерофосфолипидов (ГФЛ) неоднозначны. Для ожирения характерно повышение общей концентрации ГФЛ в плазме крови. Так, в метаболическом исследовании сывороточных профилей больных диабетом и ожирением обнаружены повышенные концентрации глицерола, что положительно связано с установленным фенотипом СД2 и ИМТ [16].

Австралийское метаболическое исследование у пациентов с СД и ожирением выявило положительную

взаимосвязь глицеролипидов с окружностью талии [24]. Но фосфолипиды и большинство видов лизофосфолипидов были отрицательно связаны с ИМТ [28]. Увеличение ИМТ связано со значительным снижением уровня циркулирующих фосфатидилхолинов и лизофосфатидилхолинов [29, 35, 38].

В другом исследовании у подростков с ожирением наблюдали значительное снижение уровней пяти видов лизофосфатидилхолинов (LPC) (LPC18:2, LPC18:1, LPC20:2, LPC20:1 и LPC20:0) [39]. Также были снижены PC (15:0/0:0), PE (18:0/0:0), LPC (15:0) и LPE (0:0/18:0), PI (14:0/22:2) [40]. Лизофосфатидилхолины LPC 18:2, PC 18:1 отрицательно коррелируют с ИМТ [41]. Но ацил-лизофосфатидилхолин C16:1, диацил-фосфатидилхолина и LPCa C16:1 имеют самые высокие значения индексов корреляции с высоким ИМТ [42]. Фосфатидилхолины, которые содержат полиненасыщенные омега-6 жирные кислоты, такие как 20:3, 20:4 или 22:4, также были положительно связаны с ИМТ [28].

Одним из четких сигналов, отражающим соотношения липидов плазмы крови, связанных с ИМТ, было отношение между содержанием в плазме алкилфосфатидилэтанолamina/алкилфосфатидилэтанолamina; например соотношение PE (P-16:0/22:6)/PE(O-16:0/22:6) [29, 43, 44]. Глицерофосфатидилэтанолamina PE P-16:0/20:3 показали значительный положительный результат связи с ИМТ [41]. LPE с более короткой длиной углерода и меньшим количеством двойных связей были связаны с более низким ИМТ [13].

У пациентов с метаболически здоровым ожирением повышены диацилфосфатидилхолины C32:1 и C38:3, при этом ацил-лизофосфатидилхолин C18:1 и C18:2 были обратно связаны с их состоянием. При фенотипе метаболически нездорового ожирения содержание ацил-лизофосфатидилхолина C16:1 было выше, а уровень ацил-лизофосфатидилхолинов C18:1 и C18:2 снижен [45].

Текущие результаты исследования липидома при ожирении и диабете у животных свидетельствуют о том, что чрезмерная экспрессия липопротеинлипазы (LPL) может привести к повышению активности цикла Кребса и протеиногенных путей метаболизма аминокислот в скелетной мышце, и эти улучшения могут играть важную роль в биологических механизмах, лежащих в основе антидиабетических особенностей сверхэкспрессии LPL [46]. Это подтверждает и другое исследование P.J. Ferrara и соавт.: мышцы со специфичным для скелетных мышц нокаутом лизофосфатидилхолин-ацилтрансферазы 3 (LPCAT3), фермента, участвующего в трансацилировании фосфолипидов, продемонстрировали увеличение от-

ношения лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин и повышение чувствительности скелетных мышц к инсулину [47].

ЛИПИДОМНЫЕ МАРКЕРЫ ТКАНЕЙ ПРИ ОЖИРЕНИИ

Для оценки жировой ткани мы можем опираться на углубленный атлас липидома человека AdipoAtlas, включающий в себя липидомный профиль жировой ткани пациентов с ожирением и нормальной массой тела. Количественный анализ образцов подкожной и висцеральной жировой ткани оцениваемой когорты позволил разделить глобальный липидом на основные классы. Львиная доля общего количества принадлежит ТАГ (96,2 нмоль/мкг белка), содержащих в основном насыщенные и мононенасыщенные жирные ацильные цепи, в среднем две двойные связи на три цепи. Второй по распространенности класс – эфиры холестерина. За неполярными липидами в количественном отношении следовали фосфотидилхолины, фосфотидилэтанолamina и сфингомиелин. Для фосфотидилэтанолamina характерна более высокая концентрация полиненасыщенных жирных кислот. Другим липидным классом высокого метаболического значения являются церамиды, при этом C16:0 и C18:1 – наиболее распространенные их виды. В жировом депо детектируется большое количество потенциально липотоксических дезоксицерамидов, что составляет более 10% от всех подклассов церамидов [48].

Биоптаты печени

В небольшой когорте исследуемых пациентов с ожирением абсолютное количество церамидов, SM, PC, PE, PE(e), Lyso (tot) и LPC было выше в печени по сравнению с жировыми тканями. Количество PC(e), LPE, LPE(e) и триацилглицеролов было ниже в печени, чем в жировой ткани. Концентрации DAG в печени были сравнимы с таковыми в жировой ткани. В подкожной и висцеральной жировой ткани ТАГ составляли 99,2% липидов, фосфолипиды – 0,8%, тогда как в печени 75,5 и 24,5% соответственно [49].

У пациентов с ожирением липидный состав триглицеридов, фосфатидилхолинов и сфингомиелинов биоптата печени коррелирует с сфингомиелинами в липопротеинах низкой плотности [50]. Выявлены значительные положительные корреляции между пропорцией церамида C14:0, C18:0, C20:0 и C24:1 в печени и всей плазме. Данные подвиды могут являться маркерами видового состава печеночных церамидов у пациентов с ожирением [51].

Биоптаты эпикардиального жира

При анализе липидного профиля плазмы крови было выявлено девять видов липидов, ассоциированных с увеличением эпикардиального жира: триацилглицерол, гидроксиглицерин, ацилкарнитин, дезоксицерамид, алкилдиацилглицерин, убихинон, диацилглицерол, дигидроцерамид, фосфатидилинозитол и фосфатидилглицерин. Самые сильные наблюдаемые ассоциации были с двумя видами дезоксицерамидов [52]. Также повышены Cer(m18:1/18:0) и Cer(m18:1/20:0) и сфингозин, что подтверждает более раннее исследование биоптатов при ожирении [53].

Липидомный анализ подкожной и эпикардиальной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца и СД2 выявил множественные изменения в содержании жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов (15:0, 15:1, 17:0, 17:1). Более выраженные изменения были обнаружены в эпикардиальной жировой ткани по сравнению с подкожной [54].

Сравнение подкожного и висцерального жира

Степень изменения липидома в зависимости от топологии жира проанализировали N. Al-Sari и соавт. [55]. Липидомный анализ был проведен для жировой ткани, собранной из живота, груди, бедра и нижней части спины. Уровни ТАГ с длинноцепочечными полиненасыщенными ЖК были выше в ткани бедра. Разница между жировой тканью бедра и нижней части спины была в целом аналогична разнице между бедром и животом. Незначительные изменения спектра липидов наблюдались в ткани нижней части спины и груди, в то время как более значительные – в жировой ткани бедра и живота [55]. Необходимо отметить, что липидом мышечной ткани в отличие от жировой не имеет столь выраженных различий между пациентами [56].

У пациентов с ожирением, но без СД, липидом подкожной ЖТ содержит большие концентрации длинноцепочечных ЖК и церамидов, в частности церамида C18:1/24:1 [57]. А у пациентов с ожирением и СД2 отмечается повышение уровня церамида C16:0 в подкожной жировой клетчатке, нежели в висцеральных отложениях [58]. Эти изменения также подтверждает и более свежее исследование [59].

В висцеральной ткани у пациентов с диабетом и предиабетом повышено содержание Cer(d18:1/16:0), Cer(d18:1/18:0), Cer(d18:1/18:1), Cer(d18:1/20:0), Cer(d18:1/24:1) в отличие от недиабетических субъектов [60]. Аналогичный результат получили B. Choromańska и соавт. у пациентов с метаболиче-

ским синдромом, которые также заметили, что насыщенные пальмитиновая и стеариновая кислоты были наиболее распространенными жирными кислотами фракции церамидов в обеих жировых тканях [17].

Повышение церамидов висцеральной ткани у пациентов с ожирением и СД подтвердило ранее исследование. Длина ацильной цепи церамидов жировой ткани (C16–C20) короче нежели в плазме (C16–C24). Более низкие концентрации сфингомиелина наблюдались пациентов с ожирением [56].

Чрезмерное накопление липидов в жировой ткани наблюдается в основном в виде ТАГ. Физиологические стимулы приводят к гидролизу ТАГ в адипоцитах, что сопровождается увеличением содержания длинноцепочечных жирных кислот в плазме и последующему накоплению липидов в эктопических тканях. В группе пациентов с метаболическим синдромом во фракции ТАГ соотношение насыщенных жирных кислот к ненасыщенным значительно снижалось в висцеральной и подкожной жировой тканях, а пул свободных ЖК в плазме увеличивался преимущественно за счет пальмитиновой, стеариновой, арахидоновой и нервоновой кислот [17].

Пациенты, получающие 12 мес добавки рыбьего жира, вошли в исследовательскую когорту многоцентрового исследования, где были взяты биоптаты жировой ткани и плазма крови. Жирные кислоты с длиной углеродной цепи более 22 углеродных атомов преобладают в подкожной жировой ткани, а полиненасыщенные ЖК – в висцеральных жировых отложениях [61].

Жировая ткань хранит значительное количество холестерина в организме человека, при этом ожирение связано со снижением концентрации холестерина в сыворотке крови. У пациентов с метаболическим синдромом обнаружена прямая связь между содержанием окисленных метаболитов холестерина в жировой ткани – оксистеринов и уровнем инсулина крови, а также резистентностью к гормону. Тканевый холестерин больше коррелирует с 27-гидроксихолестерином в подкожной жировой ткани и с 24S-гидроксихолестерином в висцеральной жировой ткани [62].

Особое внимание следует уделить исследованию 2022 г., в котором 26 пациентов с ожирением без СД2 прошли бариатрическую операцию [63]. У пациентов получены биоптаты подкожной жировой ткани бедра, подкожной жировой ткани живота, глубокой подкожной жировой ткани живота, внутрибрюшной жировой ткани, двух участков мышечной ткани (васта латеральная мышца, прямая мышца живота) и печени (клин правой доли). Исследование показало, что липидомные профили плазмы больше отражают

профиль печени, чем другие исследованные ткани. Все четыре локализации жировых отложений показывали сходства в метаболических отношениях с плазмой, не было четкой дискриминации в отношении их метаболической связи с плазмой между различными депо, но пламенный пул в большей степени отражает отложения ТАГ в глубоких слоях жировой ткани нежели подкожной.

Те фракции сфингомиелинов и церамидов, которые коррелируют между плазмой и печенью, показывают и специфику длины цепи, т.е. это сфингомиелины и церамиды, которые содержат длинноцепочечные жирные кислоты с ацильной цепью 22 и более углеродных атомов, такие как C22:0, C24:0 и C24:1. Печень является основным источником церамидов, но учитывая, что их содержание в печени хорошо коррелирует с плазменными фракциями, доказывает тот факт, что сфинголипиды в плазме могут отражать их аномальный метаболизм в печени. Сфингомиелины, которые содержали более низкое четное общее количество углерода ($C \leq 34$) и мононенасыщенную цепь жирных кислот, а также их концентрация коррелировали с показателями внутрибрюшной жировой ткани, печени и мышц [63].

АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОЖИРЕНИЕМ СОСТОЯНИЯ

Множественность органных поражений при ожирении включает частую патологию гепатобилиарной системы. По данным аутопсий, при СД2 с ожирением неалкогольная жировая болезнь печени диагностируется в 70–93% случаях [64]. Недавнее исследование установило, что плазменные уровни некоторых липидных фракций (насыщенных и мононенасыщенных ТАГ) указывают на ранние стадии накопления жира в печени [65].

Виды ТАГ, содержащие низкое общее количество углерода и меньшее количество ненасыщенных связей, были значимо связаны со стеатогепатозом, сосудистыми заболеваниями и повышенным риском СД, в то время как виды, содержащие высокое количество углерода и большее количество ненасыщенных связей, – со снижением риска СД [66–68].

Длительно персистирующее ожирение способствует развитию фокально-сегментарного гломерулосклероза, при хронической болезни почек, диабетической нефропатии. У пациентов с прогрессирующей диабетической нефропатией и ожирением было выявлено относительное обилие ТАГ с более длинноцепочечными полиненасыщенными ацилами и более низкое содержание ацилкарнитинов C16–C20. Повышение их уровня имело компенсаторный

адаптивный механизм для преобразования более токсичных липидов (насыщенных неэстерифицированных жирных кислот) в менее токсичные липиды (полиненасыщенные длинноцепочечные ТАГ). Ненасыщенные свободные ЖК и ТАГ с короткоцепочечными ацилами и низким содержанием двойных связей предсказали прогрессирование диабетической болезни почек [69].

Это подтверждает другое более позднее исследование: пациенты с ожирением и хронической болезнью почек имели тенденцию к уменьшению числа углеродов в ацильной цепи преимущественно ненасыщенных ТАГ. Содержание лизофосфатидилхолинов также повышено у данных пациентов, но баланс насыщенности и ненасыщенности сохранен. LysoPC (18:0), LysoPC (20:3) и PC (35:3) представили наибольшую прогностические способности различать пациентов с ожирением и ожирением с нефропатией [64].

Среди других негативных последствий некорректируемого системного воспаления при ожирении встречается повреждение нервных клеток и волокон. По результатам глобальной метаболомики и целевой липидомики в плазме пациентов с ожирением и полинейропатией повышены уровни СЖК, в большей части за счет длинноцепочечных ЖК (более 19 атомов). В этой клинической когорте метаболомные профили между людьми, страдающими ожирением, и худыми людьми наиболее сильно коррелировали с метаболизмом гамма-глутамиламинокислоты и аминокислот с разветвленной цепью. При этом уровень гамма-глутамиламинокислоты в плазме положительно коррелирует с ТАГ, ИМТ и кровяным давлением и связан с окислительным стрессом при ожирении и метаболическим синдромом [70].

В другом исследовании пациенты с СД и полинейропатией имели повышенные концентрации средне- и длинноцепочечных насыщенных ЖК от 8 до 18 углеродов [71]. У пациентов со значительно сниженным общим количеством среднецепочечных (C6–C14) ацилкарнитинов отмечалась корреляция с развитием периферической нейропатии в течение 10 лет. Для этих пациентов было характерно снижение содержания в плазме среднецепочечных ацилкарнитинов (C2–C26), фосфатидилхолинов и увеличение лизофосфатидилхолинов [72]. Низкий уровень сфингомиелина (SM) в плазме может коррелировать с более плохими неврологическими исходами [71].

ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДОМА ПОСЛЕ БАРИАТРИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ

Бариатрическая хирургия является самым эффективным способом лечения ожирения. По российским

рекомендациям от 2018 г. бариатрические операции показаны пациентам с ИМТ более 40 кг/м² и ИМТ 35–40 кг/м² при наличии сопутствующих ожирению заболеваний, при которых следует ожидать улучшение по мере снижения массы тела (СД2, ССЗ, синдром обструктивного апноэ сна, поражение суставов). Американские клинические рекомендации ссылаются на проспективные и ретроспективные исследования, подтверждающие улучшение качества и продолжительности жизни после бариатрических операций с ИМТ 30–34,9 кг/м².

В бариатрической хирургии существует четыре доминирующие процедуры: Bilio-pancreatic Diversion (BPD), Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGBP), Adjustable Gastric Banding, Sleeve Gastrectomy, основные эффекты достигаются за счет мальабсорбции и рестрикции.

Метаанализ метаболомного профилирования плазмы крови пациентов после хирургических вмешательств (Roux-en-Y и бандажирование желудка) описывает процентное изменение резистентности к инсулину после хирургического лечения ожирения. Так, 92 метаболита связаны с разной степенью снижения НОМА-IR до –40% от начальных результатов [73]. Недавнее исследование выявило ускоренную большую потерю избыточной массы тела метаболически нездорового пациента с ожирением нежели с метаболически здоровым ожирением [74].

Благодаря анализу плазмы крови было доказано, что содержание короткоцепочечных ЖК, главным образом метаболитов микробиоты кишечника, уменьшается после бариатрической операции, в то время как уровень разветвленных ЖК увеличивается. Изменения в содержании короткоцепочечных ЖК связаны с потерей массы тела. Показано, что повышенный уровень ЖК с разветвленной цепью в плазме связан с повышением чувствительности к инсулину [75, 76]. Снижение концентрации свободных ЖК в плазме крови после шунтирования желудка связано с уменьшением расстояния прохождения пищи в кишечнике и, соответственно, с уменьшением поглощения жира, нежели при лапароскопической рукавной гастрэктомии, где поверхность всасывания больше [77].

Установлено, что в плазме кластер фосфатидилхолинов, особенно фосфатидилхолинов с суммой диацильных остатков C42:Ys, а также SM (OH) C16:1, SM C26:1, lysoPC а C16:0, глутамина, глицина, цитруллина и гистидина, были обогащены только у пациентов из группы перенесших Roux-en-Y, но не у пациентов из группы коррекции образа жизни и диеты [78]. Поскольку некоторые группы ЖК считаются полезными, например n-3 полиненасыщенные ЖК

(PUFA), в то время как другие вредны для здоровья человека, например насыщенные ЖК (SFA), каждое изменение их уровня может оказать важное влияние на метаболический исход бариатрической операции.

Была взята кровь у пациентов до и после шунтирования желудка одним анастомозом. У пациентов с болезненным ожирением перед операцией по сравнению с группой контроля наблюдали снижение общего количества ЖК с нечетным числом углеродных атомов, с разветвленной цепью и полиненасыщенных ЖК. Содержание мононенасыщенных ЖК было повышено, что вызвано в основном более высоким уровнем олеиновой кислоты (18:1). Содержание включенных в триглицериды мононенасыщенных ЖК у пациентов после операции повышалось в основном из-за более высокого уровня олеиновой кислоты. Не было заметно повышения уровня полиненасыщенных ЖК. Из-за противовоспалительных, кардиопротекторных и противораковых свойств полиненасыщенных ЖК снижение их содержания в отдаленном послеоперационном периоде делает необходимым назначать биодобавки. В то же время содержание в сыворотке крови α -линоленовой кислоты и эйкозапентаеновой кислот существенно не отличалось до и после операции [79].

С помощью газовой хроматографии исследована кровь пациентов до и после лапароскопической рукавной гастрэктомии. Результатом стало длительное снижение уровня α -линоленовой кислоты и эйкозапентаеновой кислот в сыворотке крови в первый год [80].

Через две недели после шунтирования желудка одним анастомозом в плазме крови выявлено снижение содержания ЖК с разветвленной цепью и увеличение уровня мононенасыщенных FA (MUFA). У пациентов с ожирением в плазме крови также отмечалось снижение уровня некоторых полиненасыщенных FA (PUFA), включая линоленовую (18:3 n-3) и эйкозатетраеновую кислоты (EPA; 20:5 n-3 и 20:4 n-3) [81].

Анализ крови до и после Roux-en-Y выявил значимые изменения в содержании шести метаболитов (3-индолеуксусной кислоты, 2-гидроксимасляной кислоты, валина, глутаминовой кислоты, 4-гидроксибензолеуксусной кислоты и альфа-токоферола), при этом изменения содержания выявленных метаболитов были связаны с динамикой уровней липидов, инсулина и глюкозы [82].

Первое исследование с использованием масс-спектрометрии капиллярного электрофореза у пациентов с ожирением после лапароскопической рукавной гастрэктомии показало, что относительное содержание метаболитов цикла трикарбоновых кислот, включая лимонную кислоту, сукцинат и

яблочную кислоту, было значительно повышено в плазме крови после операции [83].

Пациенты с хронической болезнью почек и тяжелым ожирением после Roux-en-Y Gastric и Sleeve Gastrectomy операции показали резкое снижение массы тела со значительным снижением протеинурии, альбуминурии, уровня мочевой кислоты, уменьшением степени клубочковой гиперфилтрации и повышением уровня липопротеинов высокой плотности. Липидный спектр и метаболом сыворотки крови пациентов существенно изменился после операции: снизился уровень диацилглицеролов, триацилглицеролов и аминокислот с разветвленной цепью. Значительное снижение их уровня положительно коррелировало с содержанием мочевой кислоты, в то время как уровни PC (39:0) и PC (44:5) повысились и лишь PC (36:3) снизился [84]. Интересно, что бариатрическая хирургия не восстановила все виды липидов, некоторые из них уменьшились, что привлекло внимание к ним как к потенциальным мишеням для ранней диагностики или терапевтического вмешательства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование липидомных сигнатур при ожирении и ассоциированных с ним состояний – перспективный раздел фундаментальной медицины, позволяющий существенно и на новом понятийном уровне стратифицировать когорту пациентов с ожирением на различные фенотипы, в том числе на метаболически здоровый и нездоровый фенотип. Динамические изменения липидома, как на фоне диетических воздействий, медикаментозного лечения, так и после различных бариатрических операций, также интересны с точки зрения разработки персонализированных стратегий лечения данного заболевания. Имеющиеся на данный момент исследования и их результаты позволяют считать, что мы находимся только в самом начале этого перспективного биомедицинского направления.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. WHO. Fact Sheet–Obesity and Overweight. updated 2021.6.9 (2021). URL: from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Accessed September 3, 2020).
2. Stevens V.L., Carter B.D., McCullough M.L., Campbell P.T., Wang Y. Metabolomic profiles associated with BMI, waist circumference, and diabetes and inflammation biomarkers in women. *Obesity (Silver Spring)*. 2020 Jan.;28(1):187–196. DOI: 10.1002/oby.22670.
3. Kliemann N., Viallon V., Murphy N., Beeken R.J., Rothwell J.A., Rinaldi S. et al. Metabolic signatures of greater body size and their associations with risk of colorectal and endometrial cancers in the european prospective investigation into cancer and nutrition. *BMC Med*. 2021Apr.30;19(1):101. DOI: 10.1186/s12916-021-01970-1.
4. Wang C., Wang M., Han X. Applications of mass spectrometry for cellular lipid analysis. *Mol. Biosyst*. 2015;11(3):698–713. DOI: 10.1039/C4MB00586D.
5. Pekov S.I., Sorokin A.A., Kuzin A.A., Bocharov K.V., Bormotov D.S., Shivalin A.S. et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas *ex vivo*. *Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem*. 2021;15(3):241–247. DOI: 10.1134/S1990750821030070.
6. Liebis G., Fahy E., Aoki J., Dennis E.A., Durand T., Ejsing C.S. et al. Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. *J. Lipid Res*. 2020Dec.;61(12):1539–1555. DOI: 10.1194/jlr.S120001025.
7. Lytrivi M., Castell A.L., Poutout V., Cnop M. Recent insights into mechanisms of β -cell lipo- and glucolipotoxicity in type 2 diabetes. *J. Mol. Biol*. 2020March;432(5):1514–1534. DOI: 10.1016/j.jmb.2019.09.016.
8. Yoon H., Shaw J.L., Haigis M.C., Greka A. Lipid metabolism in sickness and in health: Emerging regulators of lipotoxicity. *Mol. Cell*. 2021Sept.16;81(18):3708–3730. DOI: 10.1016/j.molcel.2021.08.027.
9. Felix J.B., Cox A.R., Hartig S.M. Acetyl-coa and metabolite fluxes regulate white adipose tissue expansion. *Trends Endocrinol. Metab*. 2021May;32(5):320–332. DOI: 10.1016/j.tem.2021.02.008.
10. Rahman M.N., Diantini A., Fattah M., Barliana M.I., Wijaya A. A highly sensitive, simple, and fast gas chromatography-mass spectrometry method for the quantification of serum short-chain fatty acids and their potential features in central obesity. *Anal. Bioanal. Chem*. 2021Nov.;413(27):6837–6844. DOI: 10.1007/s00216-021-03639-3.
11. Rangel-Huerta O.D., Pastor-Villaescusa B., Gil A. Are we close to defining a metabolomic signature of human obesity? A systematic review of metabolomics studies. *Metabolomics*. 2019;June13;15(6):93. DOI: 10.1007/s11306-019-1553-y.
12. Park S., Sadanala K.C., Kim E.K. A Metabolomic approach to understanding the metabolic link between obesity and diabetes. *Mol. Cells*. 2015July;38(7):587–596. DOI: 10.14348/molcells.2015.0126.
13. Ho J.E., Larson M.G., Ghorbani A., Cheng S., Chen M.H., Keyes M. et al. Metabolomic Profiles of Body Mass Index in the Framingham Heart Study Reveal Distinct Cardiometabolic Phenotypes. *PLoS One*. 2016Feb.10;11(2):e0148361. DOI: 10.1371/journal.pone.0148361.
14. Lope V., Del Pozo M.D.P., Lope V., Criado-Navarro I., Pastor-Barriuso R., Fernández de Larrea N. et al. Serum phospholipid fatty acids levels, anthropometric variables and adiposity in spanish premenopausal women. *Nutrients*. 2020June25;12(6):1895. DOI: 10.3390/nu12061895.
15. Yamazaki Y., Kondo K., Maeba R., Nishimukai M., Nezu T., Hara H. Proportion of nervonic acid in serum lipids is associated with serum plasmalogen levels and metabolic syndrome. *J. Oleo Sci*. 2014;63(5):527–537. DOI: 10.5650/jos.ess13226.
16. Gogna N., Krishna M., Oommen A.M., Dorai K. Investigating correlations in the altered metabolic profiles of obese and diabetic subjects in a South Indian Asian population

- using an NMR-based metabolomic approach. *Mol. Biosyst.* 2015Feb.;11(2):595–606. DOI: 10.1039/c4mb00507d.
17. Choromańska B., Myśliwiec P., Razak Hady H., Dadan J., Myśliwiec H., Chabowski A. et al. Metabolic syndrome is associated with ceramide accumulation in visceral adipose tissue of women with morbid obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2019March;27(3):444–453. DOI: 10.1002/oby.22405.
18. Ma Y., Xiong J., Zhang X., Qiu T., Pang H., Li X. et al. Potential biomarker in serum for predicting susceptibility to type 2 diabetes mellitus: Free fatty acid 22:6. *J. Diabetes Investig.* 2021June;12(6):950–962. DOI: 10.1111/jdi.13443.
19. Fretts A.M., Imamura F., Marklund M., Micha R., Wu J.H.Y., Murphy R.A. et al. Associations of circulating very-long-chain saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: a pooled analysis of prospective cohort studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019Apr.1;109(4):1216–1223. DOI: 10.1093/ajcn/nqz005.
20. Murphy M.P. Mitochondrial dysfunction indirectly elevates ROS production by the endoplasmic reticulum. *Cell Metab.* 2013;18(2):145–146. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.07.006.
21. Mihalik S.J., Goodpaster B.H., Kelley D.E., Chace D.H., Vockley J., Toledo F.G. et al. Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipotoxicity. *Obesity (Silver Spring)*. 2010Sept.;18(9):1695–1700. DOI: 10.1038/oby.2009.510.
22. Koves T.R., Ussher J.R., Noland R.C., Slentz D., Mosedale M., Ilkayeva O. et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab.* 2008;7(1):45–56. DOI: 10.1016/j.cmet.2007.10.013.
23. Sharma S., Black S.M. Carnitine homeostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease. *Drug Discov. Today Dis. Mech.* 2009;6(1-4):e31–e39. DOI: 10.1016/j.dd-mec.2009.02.001.
24. Beyene H.B., Olshansky G., Giles C., Huynh K., Cinel M., Mellett N.A. et al. Lipidomic Signatures of Changes in Adiposity: A Large Prospective Study of 5849 Adults from the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study. *Metabolites*. 2021Sept.21;11(9):646. DOI: 10.3390/metabo11090646.
25. Zhao S., Feng X.F., Huang T., Luo H.H., Chen J.X., Zeng J. et al. The association between acylcarnitine metabolites and cardiovascular disease in chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020May5;11:212. DOI: 10.3389/fendo.2020.00212.
26. Schooneman M.G., Vaz F.M., Houten S.M., Soeters M.R. Acylcarnitines: reflecting or inflicting insulin resistance? *Diabetes*. 2013Jan.;62(1):1–8. DOI: 10.2337/db12-0466.
27. Taghizadeh H., Emamgholipour S., Hosseinkhani S., Arjmand B., Rezaei N., Dilmaghani-Marand A. et al. The association between acylcarnitine and amino acids profile and metabolic syndrome and its components in Iranian adults: Data from STEPs 2016. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2023Feb.27;14:1058952. DOI: 10.3389/fendo.2023.1058952.
28. Beyene H.B., Olshansky G.T., Smith A.A., Giles C., Huynh K., Cinel M. et al. High-coverage plasma lipidomics reveals novel sex-specific lipidomic fingerprints of age and BMI: Evidence from two large population cohort studies. *PLoS Biol.* 2020Sept.28;18(9):e3000870. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000870.
29. Fikri A.M., Smyth R., Kumar V., Al-Abadla Z., Abusnana S., Munday M.R. Pre-diagnostic biomarkers of type 2 diabetes identified in the UAE's obese national population using targeted metabolomics. *Sci. Rep.* 2020Oct.19;10(1):17616. DOI: 10.1038/s41598-020-73384-7.
30. Telle-Hansen V.H., Christensen J.J., Formo G.A., Holven K.B., Ulven S.M. A comprehensive metabolic profiling of the metabolically healthy obesity phenotype. *Lipids Health Dis.* 2020May9;19(1):90. DOI: 10.1186/s12944-020-01273-z.
31. Дылева Ю.А., Груздева О.В., Белик Е.В. Церамиды: фокус на ожирение. *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(3):307–315. DOI: 10.14341/omet12565.
32. Green C.D., Maceyka M., Cowart L.A., Spiegel S. Sphingolipids in metabolic disease: The good, the bad, and the unknown. *Cell Metab.* 2021July6;33(7):1293–1306. DOI: 10.1016/j.cmet.2021.06.006.
33. Chew W.S., Torta F., Ji S., Choi H., Begum H., Sim X. et al. Large-scale lipidomics identifies associations between plasma sphingolipids and T2DM incidence. *JCI Insight*. 2019June4;5(13):e126925. DOI: 10.1172/jci.insight.126925.
34. Lind L., Ahmad S., Elmståhl S., Fall T. The metabolic profile of waist to hip ratio-A multi-cohort study. *PLoS One*. 2023Feb.27;18(2):e0282433. DOI: 10.1371/journal.pone.0282433.
35. Ahmad S., Hammar U., Kennedy B., Salihovic S., Ganna A., Lind L. et al. Effect of General Adiposity and Central Body Fat Distribution on the Circulating Metabolome: A Multicohort Nontargeted Metabolomics Observational and Mendelian Randomization Study. *Diabetes*. 2022Feb.1;71(2):329–339. DOI: 10.2337/db20-1120.
36. Weir J.M., Wong G., Barlow C.K., Greeve M.A., Kowalczyk A., Almasy L. et al. Plasma lipid profiling in a large population-based cohort. *J. Lipid Res.* 2013Oct.;54(10):2898–2908. DOI: 10.1194/jlr.P035808.
37. Liang X., Tang X., Xi B., Qu P., Ren Y., Hao G. Abdominal obesity-related lipid metabolites may mediate the association between obesity and glucose dysregulation. *Pediatr. Res.* 2023Jan.;93(1):183–188. DOI: 10.1038/s41390-022-02074-z.
38. Tulipani S., Palau-Rodriguez M., Miñarro Alonso A., Cardona F., Marco-Ramell A., Zonja B. et al. Biomarkers of morbid obesity and prediabetes by metabolomic profiling of human discordant phenotypes. *Clin. Chim. Acta*. 2016Dec.1;463:53–61. DOI: 10.1016/j.cca.2016.10.005.
39. Wang Y., Jiang C.T., Song J.Y., Song Q.Y., Ma J., Wang H.J. Lipidomic profile revealed the association of plasma lysophosphatidylcholines with adolescent obesity. *Biomed. Res. Int.* 2019Dec.13;2019:1382418. DOI: 10.1155/2019/1382418.
40. Yin R., Wang X., Li K., Yu K., Yang L. Lipidomic profiling reveals distinct differences in plasma lipid composition in overweight or obese adolescent students. *BMC Endocr. Disord.* 2021Oct.3;21(1):201. DOI: 10.1186/s12902-021-00859-7.
41. Pikó P., Pál L., Szűcs S., Kósa Z., Sándor J., Ádány R. Obesity-related changes in human plasma lipidome determined by the lipidizer platform. *Biomolecules*. 2021Feb.21;11(2):326. DOI: 10.3390/biom11020326.
42. Bagheri M., Djazayeri A., Farzadfar F., Qi L., Yekaninejad M.S., Aslibekyan S. et al. Plasma metabolomic profiling of amino

- acids and polar lipids in Iranian obese adults. *Lipids Health Dis.* 2019Apr.9;18(1):94. DOI: 10.1186/s12944-019-1037-0.
43. Werner E.R., Keller M.A., Sailer S., Lackner K., Koch J., Hermann M. et al. The *TMEM189* gene encodes plasmalogen desaturase which introduces the characteristic vinyl ether double bond into plasmalogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020Apr.7;117(14):7792–7798. DOI: 10.1073/pnas.1917461117
 44. Huynh K., Barlow C.K., Jayawardana K.S., Weir J.M., Mellett N.A., Cinel M. et al. High-throughput plasma lipidomics: detailed mapping of the associations with cardiometabolic risk factors. *Cell Chem. Biol.* 2019Jan.17;26(1):71–84.e4. DOI: 10.1016/j.chembiol.2018.10.008.
 45. Bagheri M., Farzadfar F., Qi L., Yekaninejad M.S., Chamari M., Zeleznik O.A. et al. Obesity-related metabolomic profiles and discrimination of metabolically unhealthy obesity. *J. Proteome Res.* 2018Apr.6;17(4):1452–1462. DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00802.
 46. Nishida Y., Nishijima K., Yamada Y., Tanaka H., Matsumoto A., Fan J. et al. Whole-body insulin resistance and energy expenditure indices, serum lipids, and skeletal muscle metabolome in a state of lipoprotein lipase overexpression. *Metabolomics.* 2021Feb.16;17(3):26. DOI: 10.1007/s11306-021-01777-4.
 47. Ferrara P.J., Rong X., Maschek J.A., Verkerke A.R., Siripoksup P., Song H. et al. Lysophospholipid acylation modulates plasma membrane lipid organization and insulin sensitivity in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 2021Apr.15;131(8):e135963. DOI: 10.1172/JCI135963.
 48. Lange M., Angelidou G., Ni Z., Criscuolo A., Schiller J., Blüher M. et al. AdipoAtlas: A reference lipidome for human white adipose tissue. *Cell Rep. Med.* 2021Sept.22;2(10):100407. DOI: 10.1016/j.xcrm.2021.100407.
 49. Kotronen A., Seppänen-Laakso T., Westerbacka J., Kiviluoto T., Arola J., Ruskeepää A.L. et al. Comparison of lipid and fatty acid composition of the liver, subcutaneous and intra-abdominal adipose tissue, and serum. *Obesity (Silver Spring).* 2010May;18(5):937–944. DOI: 10.1038/oby.2009.326.
 50. Lahelma M., Qadri S., Ahlholm N., Porthan K., Ruuth M., Juuti A. et al. The human liver lipidome is significantly related to the lipid composition and aggregation susceptibility of low-density lipoprotein (LDL) particles. *Atherosclerosis.* 2022Dec.;363:22–29. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.11.018.
 51. Lytle K.A., Chung J.O., Bush N.C., Triay J.M., Jensen M.D. Ceramide concentrations in liver, plasma, and very low-density lipoproteins of humans with severe obesity. *Lipids.* 2023Feb.27. DOI: 10.1002/lipd.12367.
 52. Leandro A.C., Michael L.F., Almeida M., Kuokkanen M., Huynh K., Giles C. et al. Influence of the human lipidome on epicardial fat volume in Mexican American individuals. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022June;9:889985. DOI: 10.3389/fcvm.2022.889985.
 53. Błachnio-Zabielska A.U., Baranowski M., Hirmler T., Zabielski P., Lewczuk A., Dmítruk I. et al. Increased bioactive lipids content in human subcutaneous and epicardial fat tissue correlates with insulin resistance. *Lipids.* 2012Dec.;47(12):1131–1141. DOI: 10.1007/s11745-012-3722-x.
 54. Tomášová P., Čermáková M., Pelantová H., Vecka M., Kratochvílová H., Lipš M. et al. Lipid profiling in epicardial and subcutaneous adipose tissue of patients with coronary artery disease. *J. Proteome Res.* 2020Oct.2;19(10):3993–4003. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00269.
 55. Al-Sari N., Suvitaival T., Mattila I., Ali A., Ahonen L., Trost K. et al. Lipidomics of human adipose tissue reveals diversity between body areas. *PLoS One.* 2020June16;15(6):e0228521. DOI: 10.1371/journal.pone.0228521.
 56. Hannich J.T., Loizides-Mangold U., Sinturel F., Harayama T., Vandereycken B., Saini C. et al. Ether lipids, sphingolipids and toxic 1-deoxyceramides as hallmarks for lean and obese type 2 diabetic patients. *Acta Physiol. (Oxford).* 2021May;232(1):e13610. DOI: 10.1111/apha.13610.
 57. Kolak M., Westerbacka J., Velagapudi V.R., Wågsäter D., Yetukuri L., Makkonen J. et al. Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity. *Diabetes.* 2007Aug.;56(8):1960–1968. DOI: 10.2337/db07-0111.
 58. Chaurasia B., Kaddai V.A., Lancaster G.I., Henstridge D.C., Sriram S., Galam D.L. et al. Adipocyte ceramides regulate subcutaneous adipose browning, inflammation, and metabolism. *Cell Metab.* 2016Dec.13;24(6):820–834. doi: 10.1016/j.cmet.2016.10.002.
 59. Chathoth S., Ismail M.H., Alghamdi H.M., Zakaria H.M., Hassan K.A., Alshomimi S. et al. Insulin resistance induced by de novo pathway-generated C16-ceramide is associated with type 2 diabetes in an obese population. *Lipids Health Dis.* 2022Feb.20;21(1):24. DOI: 10.1186/s12944-022-01634-w.
 60. Brusatori M., Wood M.H., Tucker S.C., Maddipati K.R., Koya S.K., Auner G.W. et al. Ceramide changes in abdominal subcutaneous and visceral adipose tissue among diabetic and nondiabetic patients. *J. Diabetes.* 2022Apr.;14(4):271–281. DOI: 10.1111/1753-0407.13262.
 61. Walker C.G., Browning L.M., Stecher L., West A.L., Madden J., Jebb S.A. et al. Fatty acid profile of plasma NEFA does not reflect adipose tissue fatty acid profile. *Br. J. Nutr.* 2015Sept.14;114(5):756–762. DOI: 10.1017/S0007114515002251.
 62. Baila-Rueda L., Cenarro A., Lamiquiz-Moneo I., Marco-Benedi V., Gracia-Rubio I., Casamayor-Franco M.C. et al. Association of cholesterol and oxysterols in adipose tissue with obesity and metabolic syndrome traits. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2022Aug.18;107(9):e3929–e3936. DOI: 10.1210/clinem/dgac188.
 63. Wu Z.E., Kruger M.C., Cooper G.J.S., Sequeira I.R., McGill A.T., Poppitt S.D. et al. Dissecting the relationship between plasma and tissue metabolome in a cohort of women with obesity: Analysis of subcutaneous and visceral adipose, muscle, and liver. *FASEB J.* 2022July;36(7):e22371. DOI: 10.1096/fj.202101812R.
 64. Lanzon B., Martin-Taboada M., Castro-Alves V., Vila-Bedmar R., González de Pablos I., Duberg D. et al. Lipidomic and metabolomic signature of progression of chronic kidney disease in patients with severe obesity. *Metabolites.* 2021Dec.3;11(12):836. DOI: 10.3390/metabo11120836.
 65. Wu Z.E., Fraser K., Kruger M.C., Sequeira I.R., Yip W., Lu L.W. et al. Untargeted metabolomics reveals plasma me-

- tabolites predictive of ectopic fat in pancreas and liver as assessed by magnetic resonance imaging: the TOFI_Asia study. *Int. J. Obes. (London)*. 2021Aug.;45(8):1844–1854. DOI: 10.1038/s41366-021-00854-x.
66. Mayo R., Crespo J., Martínez-Arranz I., Banales J.M., Arias M., Mincholé I. et al. Metabolomic-based noninvasive serum test to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: Results from discovery and validation cohorts. *Hepatology. Commun.* 2018May4;2(7):807–820. DOI: 10.1002/hep4.1188.
67. Stegemann C., Pechlaner R., Willeit P., Langley S.R., Mangino M., Mayr U. et al. Lipidomics profiling and risk of cardiovascular disease in the prospective population-based Bruneck study. *Circulation*. 2014May6;129(18):1821–1831. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002500.
68. Rhee E.P., Cheng S., Larson M.G., Walford G.A., Lewis G.D., McCabe E. et al. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans. *J. Clin. Invest.* 2011Apr.;121(4):1402–1411. DOI: 10.1172/JCI44442.
69. Afshinnia F., Nair V., Lin J., Rajendiran T.M., Soni T., Byun J. et al. Increased lipogenesis and impaired β -oxidation predict type 2 diabetic kidney disease progression in American Indians. *JCI Insight*. 2019Nov.1;4(21):e130317. DOI: 10.1172/jci.insight.130317.
70. Guo K., Savelieff M.G., Rumora A.E., Alakwaa F.M., Callaghan B.C., Hur J. et al. Plasma Metabolomics and lipidomics differentiate obese individuals by peripheral neuropathy status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2022March24;107(4):1091–1109. DOI: 10.1210/clinem/dgab844.
71. Rumora A.E., Guo K., Alakwaa F.M., Andersen S.T., Reynolds E.L., Jørgensen M.E. et al. Plasma lipid metabolites associate with diabetic polyneuropathy in a cohort with type 2 diabetes. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2021June;8(6):1292–1307. DOI: 10.1002/acn3.51367.
72. Afshinnia F., Reynolds E.L., Rajendiran T.M., Soni T., Byun J., Savelieff M.G. et al. Serum lipidomic determinants of human diabetic neuropathy in type 2 diabetes. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2022Sept.;9(9):1392–1404. DOI: 10.1002/acn3.51639.
73. Bihlmeyer N.A., Kwee L.C., Clish C.B., Deik A.A., Gerszten R.E., Pagidipati N.J. et al. Metabolomic profiling identifies complex lipid species and amino acid analogues associated with response to weight loss interventions. *PLoS One*. 2021May27;16(5):e0240764. DOI: 10.1371/journal.pone.0240764.
74. Heidari Almasi M., Barzin M., Mahdavi M., Khalaj A., Ebrahimi D., Valizadeh M. et al. Comparing Effects of Bariatric Surgery on Body Composition Changes in Metabolically Healthy and Metabolically Unhealthy Severely Obese Patients: Tehran Obesity Treatment Study (TOTS). *World J. Surg.* 2023Jan.;47(1):209–216. DOI: 10.1007/s00268-022-06769-6.
75. Martínez-Sánchez M.A., Balaguer-Román A., Fernández-Ruiz V.E., Almansa-Saura S., García-Zafra V., Ferrer-Gómez M. et al. Plasma short-chain fatty acid changes after bariatric surgery in patients with severe obesity. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 2023;19(7):727–734. DOI: 10.1016/j.soard.2022.12.041.
76. Trivedi N., Erickson H.E., Bala V., Chhonker Y.S., Murry D.J. A Concise Review of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Quantification Methods for Short Chain Fatty Acids as Endogenous Biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2022Nov.3;23(21):13486. DOI: 10.3390/ijms232113486.
77. Liakh I., Proczko-Stepaniak M., Sledzinski M., Mika A. Serum free fatty acid levels and insulin resistance in patients undergoing one-anastomosis gastric bypass. *Wideochir inne tech maloinwazyjne*. 2022March;17(1):194–198. DOI: 10.5114/wiitm.2021.107754.
78. Balonov I., Kurlbaum M., Koschker A.C., Stier C., Fassnacht M., Dischinger U. Changes in Plasma Metabolomic Profile Following Bariatric Surgery, Lifestyle Intervention or Diet Restriction-Insights from Human and Rat Studies. *Int. J. Mol. Sci.* 2023Jan.25;24(3):2354. DOI: 10.3390/ijms24032354.
79. Pakiet A., Haliński Ł.P., Rostkowska O., Kaska Ł., Proczko-Stepaniak M., Śledziński T. et al. The effects of one-anastomosis gastric bypass on fatty acids in the serum of patients with morbid obesity. *Obes. Surg.* 2021Oct.;31(10):4264–4271. DOI: 10.1007/s11695-021-05531-
80. Lin C., Våge V., Mjøs S.A., Kvalheim O.M. Changes in serum fatty acid levels during the first year after bariatric surgery. *Obes. Surg.* 2016Aug.;26(8):1735–1742. DOI: 10.1007/s11695-015-1980-4.
81. Mika A., Wilczynski M., Pakiet A., Kaska Ł., Proczko-Stepaniak M., Stankiewicz M. et al. Short-term effect of one-anastomosis gastric bypass on essential fatty acids in the serum of obese patients. *Nutrients*. 2020Jan.9;12(1):187. DOI: 10.3390/nu12010187.
82. Ahlin S., Cefalo C., Bondia-Pons I., Trošt K., Capristo E., Marini L. et al. Metabolite changes after metabolic surgery – associations to parameters reflecting glucose homeostasis and lipid levels. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2021Dec.16;12:786952. DOI: 10.3389/fendo.2021.786952.
83. Yoshida N., Kitahama S., Yamashita T., Hirono Y., Tabata T., Saito Y. et al. Metabolic alterations in plasma after laparoscopic sleeve gastrectomy. *J. Diabetes Investig.* 2021Jan.;12(1):123–129. DOI: 10.1111/jdi.13328.
84. Lanzon B., Martin-Taboada M., Castro-Alves V., Vila-Bedmar R., González de Pablos I., Duberg D. et al. Lipidomic and metabolomic signature of progression of chronic kidney disease in patients with severe obesity. *Metabolites*. 2021Dec.3;11(12):836. DOI: 10.3390/metabo11120836.

Информация об авторах

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

Баширова Анжелика Сергеевна – студентка, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, bashirova.as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4441-821X>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, руководитель Центра доклинических исследований, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9348-4945>

Пеков Станислав Игоревич – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной медицинской диагностики, МФТИ, г. Москва, stanislav.pekov@forwe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9622-3457>

Попов Игорь Алексеевич – канд. физ.-мат. наук, зав. лабораторией молекулярной медицинской диагностики, МФТИ, г. Москва, popov.ia@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5904-2470>

Баширов Сергей Рафаэлевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой общей хирургии, СибГМУ, г. Томск, bars-tomsk@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6381-1327>

Васильева Елизавета Алексеевна – аспирант, кафедра общей хирургии, СибГМУ, г. Томск, elizaveta.liza29@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-7992-9556>

Павленко Ольга Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, pavlenko.51@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6766-3974>

Криницкий Даниил Вадимович – студент, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, artel197@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5295-3151>

Чэнь Максим – ординатор, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, maximchen.98@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-4278-831X>

(✉) **Саприна Татьяна Владимировна**, tanja.v.saprina@mail.ru

Поступила в редакцию 30.08.2023;
одобрена после рецензирования 10.09.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Качество жизни и психические расстройства в постковидном периоде (систематический обзор)

Семакин А.В.^{1,2}, Федосенко С.В.¹, Малиновский В.А.¹, Агаева С.А.¹, Старовойтова Е.А.¹, Калюжин В.В.¹

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

² Томская клиническая психиатрическая больница (ТКПБ)
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Большим бременем для всего человечества явилась пандемия новой коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19), и в скором времени после ее начала исследователи обратили внимание, что элиминация вируса из организма и реконвалесценция не являются завершением болезни. Многие заболевшие не вернулись к прежнему состоянию здоровья и продолжали испытывать жалобы, отражающие патологию разных органов и систем, не могли работать, а некоторые из них столкнулись с психическими расстройствами.

Цель обзора заключалась в проведении анализа и обобщении опубликованных данных о качестве жизни и расстройствах психической сферы в постковидном периоде. Используя рекомендации «Предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализов» (PRISMA) были обнаружены 7 374 научные работы, из которых анализу подлежали 176 англоязычных и 276 русскоязычных подходящих публикаций. В обзор включили 17 (в том числе 2 русскоязычные) статей, соответствующих теме данного обзора. Жалобы на снижение памяти и внимания, появляющиеся не позднее чем через 6 мес после выздоровления от COVID-19 предъявляли 3,2–9,1% пациентов. Астенические симптомы в течение 1-го мес после элиминации нового коронавируса встречались у 55–70% пациентов, а спустя 6 мес – у каждого 5-го.

При этом поствирусной астенией чаще страдали женщины, выписанные из респираторных госпиталей и лица с хронической бронхолегочной патологией. Нередко выздоровевшие от COVID-19 сталкивались с бессонницей и эмоциональными нарушениями, частота которых также коррелировала с женским полом и тяжелым течением заболевания, потребовавшим госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В постковидном периоде не исключено развитие депрессивной симптоматики, но достаточных доказательств этому не получено. Качество жизни у этих пациентов заметно снижается, после выписки из стационара часть больных оставалась нетрудоспособна, а у некоторых начались трудности с самообслуживанием. Однако с течением времени имеется тенденция к восстановлению качества жизни, что особенно прослеживается у лиц молодого возраста. У больных, пребывавших в ОРИТ более 7 сут, реабилитационный потенциал гораздо ниже. Психопатологическая симптоматика вносит вклад в снижение качества жизни наряду с физическим компонентом (персистирующее диспноэ, снижение толерантности к физической нагрузке).

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, длительный COVID-19, постковидный синдром, качество жизни, тревога, депрессия, когнитивные нарушения

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: Семакин А.В., Федосенко С.В., Малиновский В.А., Агаева С.А., Старовойтова Е.А., Калюжин В.В. Качество жизни и психические расстройства в постковидном периоде (систематический обзор). *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):188–200. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-188-200>.

Quality of life and mental disorders in the post-COVID period (systematic review)

Semakin A.V.^{1,2}, Fedosenko S.V.¹, Malinovskiy V.A.¹, Agaeva S.A.¹, Starovoytova E.A.¹, Kalyuzhin V.V.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Tomsk Clinical Psychiatric Hospital (TCPH)

4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

ABSTRACT

The 2019 novel coronavirus infection (COVID-19) pandemic has been a great burden for all of humanity. Soon after it began, researchers noticed that elimination of the virus from the body and recovery are not the end of the disease, since many patients did not return to their previous state of health, continued to complain of pathologies of various organs and systems, could not work, and some of them developed mental disorders.

The aim of the review was to analyze and summarize published data on the quality of life and mental disorders in the post-COVID period. Using the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) recommendations, 7,374 scientific works were found, of which 176 English-language and 276 Russian-language relevant publications were selected for analysis. The review included 17 (including 2 Russian-language) articles relevant to the topic of this review. Complaints of decreased memory and attention, appearing no later than 6 months after recovery from COVID-19, were reported by 3.2–9.1% of patients. Asthenic symptoms during the first month after the elimination of the novel coronavirus infection occurred in 55–70% of patients, and six months later – in every fifth patient.

At the same time, post-viral fatigue more often affected women discharged from respiratory hospitals and persons with chronic bronchopulmonary pathology. Quite often, those who recovered from COVID-19 experienced insomnia and emotional disturbances, the frequency of which also correlated with the female sex and the severe course of the disease, which required hospitalization in the intensive care unit (ICU). In the post-COVID period, the development of depressive symptoms is not excluded, but sufficient evidence for this has not been obtained. The quality of life in these patients decreased. After discharge from the hospital, some patients remained unable to work, and some began to experience difficulties with self-care. However, over time, there is a trend toward restoration of the quality of life, which is especially evident in young people. In patients who have been in the ICU for more than 7 days, the rehabilitation potential is much lower. Psychopathological symptoms contribute to a decrease in the quality of life along with physical factors (persistent dyspnea, decreased exercise tolerance).

Keywords: novel coronavirus infection, prolonged COVID-19, post-COVID syndrome, quality of life, anxiety, depression, cognitive impairment

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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: Semakin A.V., Fedosenko S.V., Malinovskiy V.A., Agaeva S.A., Starovoytova E.A., Kalyuzhin V.V. Quality of life and mental disorders in the post-COVID period (systematic review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):188–200. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-188-200>.

ВВЕДЕНИЕ

За время пандемии новой коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19) было зарегистрировано 765 млн подтвержденных случаев заболевания и более 6,9 млн случаев смерти. В целом летальность при COVID-19 составила 0,9% (по данным ВОЗ на 04.05.2023) [1]. По данным отчета Министерства здравоохранения РФ [2], в период циркуляции штаммов SARS-CoV-2, ассоциированных с наибольшей тяжестью и летальностью, госпитализации требовали 34% заболевших, из них 11% нуждались в интенсивной терапии в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Показатели заболеваемости и смертности изменялись волнообразно и длительно сохраняли тенденцию к росту. Временные методические рекомендации по лечению COVID-19, включающие диагностические и терапевтические инновации, направленные на снижение летальности и инвалидизации, обновлялись с достаточной периодичностью [3].

Известно, что при COVID-19 поражается не только респираторный тракт, но также антигенные структуры вируса и характерные патоморфологические изменения обнаруживаются в желудочно-кишечном тракте, мочеполовой системе, эндотелии сосудов, нервной ткани и ткани почек. Описаны нереспираторные симптомы и признаки COVID-19, такие как энтероколит, васкулиты, кожные поражения, делирий, отмечено повышение риска возникновения тромбозов, нарушений ритма сердца, инфаркта миокарда и инсульта [4]. Одновременно с этим проблема COVID-19 не ограничивается острым периодом болезни продолжительностью 3–6 нед, ее последствия можно наблюдать и в более отсроченный период, который в настоящее время сложно оценить по длительности [5].

Небольшое количество исследований, проведенных с участием выживших после COVID-19 пациентов, продемонстрировали, что только 10,8% больных не имеют никаких проявлений после перенесенного заболевания. Самым частым симптомом в постковидном периоде в соответствии является утомляемость (72,8%). Также отмечают и другие проявления: тревога (38%), боли в суставах (31,4%), постоянная головная боль (28,9%), боли в груди (28,9%), «слабумие» (28,6%), депрессия (28,6%) и одышка (28,2%). При этом у 32,4% обследованных в постковидном периоде сохранялись стойкие (длительные) нарушения, значимо влияющие на качество жизни (КЖ) и состояние здоровья в целом [6].

Следует отметить, что только ограниченное число исследований посвящено психическим расстройствам при COVID-19. Однако все исследователи об-

ращают внимание на частое выявление значимого депрессивного расстройства, нарушений тревожного спектра, когнитивных сдвигов не только во время госпитализации, но и в отсроченном периоде после выписки. Высказываются опасения в отношении роста суицидальных тенденций среди лиц, перенесших COVID-19. Так, в качестве сравнения часто упоминается, что при исследовании лиц, перенесших инфекцию SARS-CoV в 2003 г., более половины выживших имели психические расстройства [7].

Установлено, что после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 среди лиц пожилого возраста часто выявляется снижение функциональной активности и способности к самообслуживанию [8]. Также обращает внимание длительный период нетрудоспособности у ряда пациентов после COVID-19 [9].

В настоящее время все еще неизвестно о механизмах развития психических расстройств при COVID-19 и их влиянии на течение и исход заболевания как в остром, так и в постковидном периодах. Указанные изменения значительно ухудшают КЖ пациентов и требуют дальнейших исследований с целью разработки комплексных алгоритмов реабилитационной помощи, направленных как на лечение ассоциированной с COVID-19 органической патологии, так и на коррекцию психического статуса.

Целью данного систематического обзора стало проведение анализа и обобщение опубликованных данных в отношении исследования КЖ и расстройств психической сферы в постковидном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С использованием электронно-поисковой системы PubMed и научной электронной библиотеки eLIBRARY.ru выполнен поиск оригинальных исследований, касающихся снижения КЖ в различных его сферах, а также обнаружения психических расстройств после COVID-19. В обзоре представлены оригинальные статьи, опубликованные в период с 1 февраля 2020 г. по 6 октября 2022 г. на английском и русском языках. При идентификации возможных исследований соблюдались все рекомендации «Предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и мета-анализов» (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses – PRISMA) [10]. Анализ выполнен по алгоритму, включающему четыре этапа (рис.).

Этап 1. Первичный поиск публикаций, посвященных исследованию КЖ и психопатологической симптоматики у пациентов, перенесших COVID-19. В ходе поиска использовались логические операторы для комбинаций следующих ключевых слов. В электронно-поисковой системе

PubMed: longcovid, post-covid, post-acute COVID-19, prolonged COVID, COVID-19 survivor, survivorsof COVID-19 и qualityoflife, mooodisorder, affectivedisorder, depressivedisorder, depression, anxiety, cognitivedisorder, cognitiveimpairment, asthenia, sleepdisturbance, suicide, physicalactivity, psychiatricoutcomes, fatigue, mentalhealth, psychopathology. В научной электронной библиотеке eLIBRARY.ru: продолжающийся симптоматический ковид, постковидный синдром, перенесенный COVID-19, затянувшийся ковид, выжившие после COVID-19 и качество жизни, расстройства настроения, аффективные расстройства, депрессивное расстройство, депрессия, тревога, тревожное расстройство, когнитивные расстройства, астения, астенический синдром, физическая активность, психиатрические последствия, слабость, психическое здоровье, психопатология. В результате поиска обнаружено 7 374 публикации: 7 049 англоязычных и 325 русскоязычных статей.

Этап 2. Из предложенного количества статей выбраны 176 англоязычных и 276 русскоязычных публикаций, содержащих данные оригинальных исследований и доступные в полнотекстовой версии.

Этап 3. При изучении абстрактов выбранных статей исключены 148 публикаций электронно-поисковой системы PubMed и 274 публикации научной электронной библиотеки eLIBRARY.ru, не связанные с темой данного систематического литературного обзора.

Этап 4. Проведен детальный анализ полного текста публикаций. Исключены статьи, не соответствующие критериям включения. Так, в двух исследованиях изучался острый период новой коронавирусной инфекции, в трех других опубликованных исследованиях не оценивались функциональные показатели, КЖ или психические расстройства при постковидном синдроме. Еще одна изученная публикация содержала информацию о социальных последствиях пандемии на популяцию людей, не заболевших COVID-19. Также были исключены три исследования с малым объемом выборки (меньше 30 пациентов); одна статья встретилась дважды, в двух публикациях полные результаты исследований представлены не были, еще в одной статье доступ к результатам был закрыт. Для подготовки обзора в анализ включены 17 (включая 2 русскоязычные) статей, соответствующих заявленной теме (рис.).

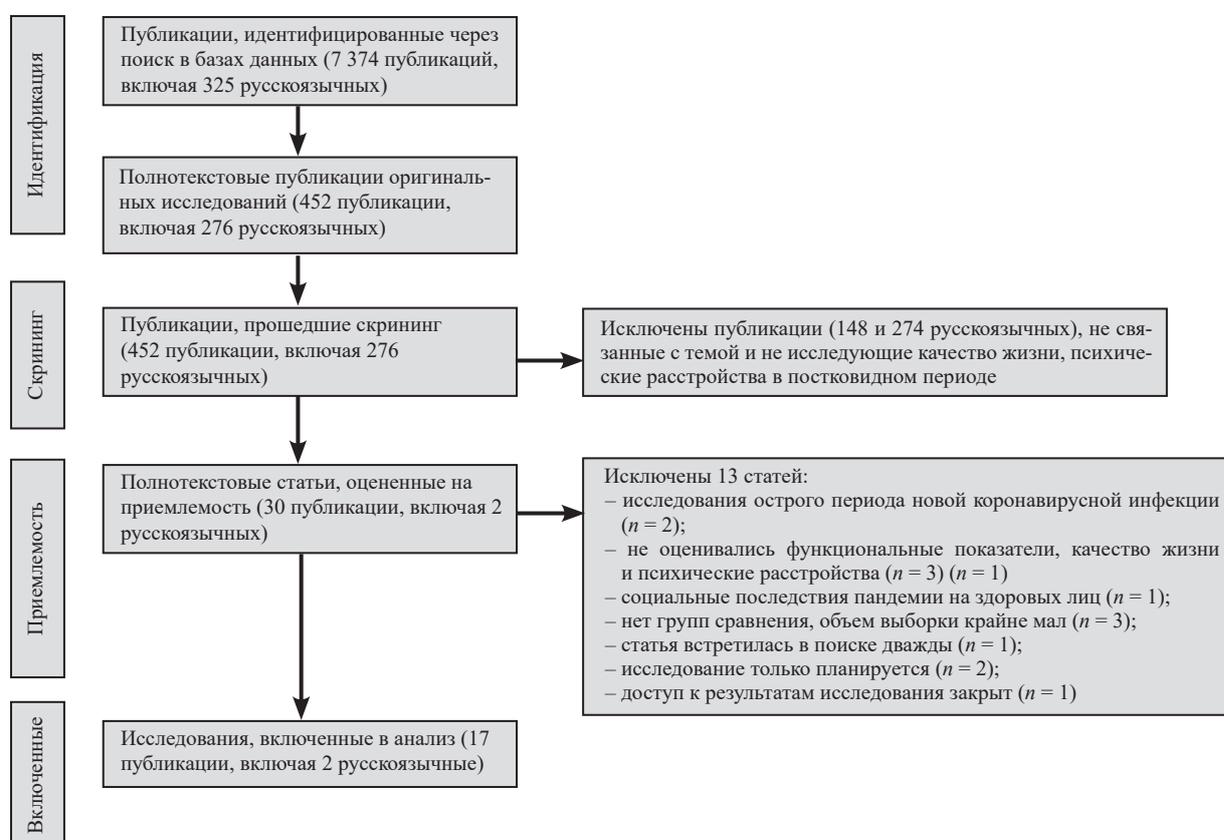


Рисунок. Алгоритм идентификации включенных в обзор исследований

СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА, ЕГО АКТУАЛЬНОСТЬ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

В ходе анализа географии опубликованных исследований выяснено, что проблемой постковидного синдрома занимаются практически по всему миру. Так, в данный обзор включены исследования, выполненные в России, США, странах Европейского союза, Китае, Индии, Израиле, Иране.

Во всех проанализированных исследованиях авторы сообщают, что после перенесенной новой коронавирусной инфекции пациенты обнаруживают комплекс проблем, связанных с сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной системами, а также психической сферой. В результате такие пациенты часто обращаются за медицинской помощью и нуждаются в реабилитационных мероприятиях, несмотря на то, что многие из них до COVID-19 не обнаруживали проблем со здоровьем.

С целью детального исследования, клинической диагностики и разработки тактики ведения пациентов, перенесших SARS-CoV-2 и продолжающих испытывать симптомы после завершения острого периода болезни, были предложены термины «длительный COVID (Long-COVID)» и «постковидный синдром». D. Munblit и соавт. [11] предлагают относить к длительному COVID (состоянию после COVID-19, подострым последствиям инфекции SARS-CoV-2) широкий спектр симптомов, возникающих в течение нескольких недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2. По мнению R. Mahmud и соавт., «синдром посткоронавирусной болезни» включает в себя сохранение симптомов после вирусного клиренса, новое развитие симптомов после реконвалесценции или обострение хронических заболеваний в течение 1 мес после первоначального клинического и вирусологического излечения заболевания [12].

В зависимости от длительности сохранения основных клинических проявлений COVID-19 Национальный институт здравоохранения и медицинской помощи (NICE) предлагает следующие варианты определения: «острый COVID» (<4 нед), «продолжающийся COVID» (4–12 нед) и «постковидный синдром» (когда симптомы длятся >12 нед и не могут быть объяснены другими заболеваниями). Эксперты NICE также ввели определение «Long-COVID», которое включает в себя как текущий COVID, так и постковидный синдром [13]. Постковидное состояние, по мнению J.B. Soriano и соавт. (2022), относится к симптомам, развившимся через 3 мес от первоначальной инфекции и длящимся не менее 2 мес,

включает в себя усталость, одышку и когнитивную дисфункцию, что ухудшает повседневное функционирование. Указанная симптоматика может сохраняться после острого COVID-19 либо возникнуть впервые после выздоровления [14]. В настоящее время постковидный синдром сохраняет актуальность и внесен в Международный классификатор болезней (МКБ) 10 под кодом U09.09 «Состояние после COVID-19 неуточненное» [15].

В исследовании L.G. Jacobs и соавт. (США, 2020) среди пациентов с благоприятным исходом госпитализации по поводу COVID-19, подтвержденной ПЦР, стойкие симптомы на 35-е сут после выписки сохранялись у 72,7% больных [16].

По результатам другого исследования, проведенного D. Munblit и соавт. (Россия, 2021), среди выписанных с диагнозом COVID-19, подтвержденным ПЦР либо установленным клинически, в среднем через 218 сут о стойких симптомах сообщали 47,1% пациентов, жалующься при этом на усталость (21,2%), одышку (14,5%) и нарушения памяти (9,1%) [11].

R. Mahmud и соавт. (Бангладеш, 2021) опубликовали результаты исследования, в котором у 46% пациентов в течение 1 мес после перенесенного COVID-19 развились симптомы, среди которых «поствирусная» усталость (астенический синдром) являлась наиболее распространенной жалобой и встречалась в 70% случаев [12].

По сведениям A. Pérez-González и соавт. (Испания, 2022), в исследовании госпитализированных пациентов с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 через 6 мес после выписки у 48,0% человек описали один или несколько сохраняющихся жалоб, наиболее распространенными среди которых были экстраторакальные симптомы (39,1%), симптомы, связанные с ощущением дискомфорта в грудной клетке (27%), одышка (20,6%) и усталость (16,1%) [17].

Анализируя публикации, посвященные проблеме постковидного синдрома, можно сделать вывод, что после перенесенной COVID-19 нередко обнаруживаются симптомы и синдромы психиатрической патологии, которые требуют коррекции и лечения. Среди этих нарушений особое место занимают астенические, аффективные и когнитивные расстройства.

КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ COVID-19

Когнитивными называют функции головного мозга, осуществляющие процесс рационального познания мира. К ним относятся внимание, память, речь, восприятие (гнозис – распознавание информации, поступающей от органов чувств), праксис (способность

приобретать, сохранять или использовать различные двигательные навыки) и управляющие (регуляторные) функции (планирование и контроль за выполнением совершаемых действий). Соответственно, когнитивные нарушения – это субъективное и(или) объективное ухудшение по сравнению с исходным уровнем когнитивных функций, которое отражается в профессиональной, социальной и бытовой деятельности [18]. Длительное время клиницистов интересовали лишь тяжелые когнитивные расстройства, такие как деменция, которые нарушают повседневное функционирование, способность к труду, самообслуживанию и общению, а также лишают больного независимости и самостоятельности [19].

В последующем внимание исследователей стали привлекать нарушения познавательной деятельности, которые обнаруживались в жалобах пациентов (например, забывчивость, снижение концентрации внимания) либо выявлялись врачом и при углубленном нейропсихологическом обследовании, но однако не вызывали признаков социальной дезадаптации. Такие расстройства стали обозначать как недементные когнитивные расстройства [20].

D. Munblit и соавт. проанализировали данные 2 649 пациентов с COVID-19, выписанных из четырех респираторных госпиталей г. Москвы. Средний возраст составил 56 лет; 51,1% респондентов были женщины. Примечательно, что 34% пациентов нуждались в дополнительной оксигенотерапии, однако инвазивная респираторная поддержка требовалась 2,6% больных. Через 218 сут после окончания госпитализации исследователи оценили состояние пациентов по телефону с помощью специальной формы ISARIC Long-term Follow-up Study (протокол долгосрочного наблюдения и исследования). По данным телефонного опроса, спустя 7 мес после выздоровления от COVID-19 на забывчивость пожаловались 9,1% респондентов [11].

Сведения об оценке распространенности когнитивных расстройств в постковидном периоде содержатся в результатах исследования A. Pérez-González и соавт. (Испания, 2022). В данном проспективном когортном исследовании приняли участие 248 пациентов с положительным результатом теста ПЦР на SARS-CoV-2. Средний возраст участников составил 57 лет; более половины (59,7%) были мужчинами; 69,4% нуждались в госпитализации, а состояние 10,2% пациентов было расценено как критическое. Через 1, 3 и 6 мес после постановки диагноза COVID-19 проводилось анкетирование, в результате которого были выявлены 3,2% пациентов с жалобами на нарушение памяти и внимания спустя 6 мес от момента диагностики COVID-19 [17].

В исследовании И.А. Золотовской и соавт. (Россия, 2021) изучалось состояние 12 амбулаторных пациентов, перенесших COVID-19, в возрасте $49,8 \pm 8,9$ лет с астеническими жалобами. Исследование предполагало оценку выраженности общей слабости, утомляемости, снижения концентрации внимания, наличия головокружения несистемного характера, головной боли, нарушений сна, а также снижения когнитивной функции. По результатам обследования оказалось, что среди пациентов, не использовавших ноотропы, нейрометаболики или антигипоксантами, на нарушение внимания предъявляли жалобы 80,0% больных, на нарушения памяти – 58,5% пациентов. В данном исследовании когнитивные нарушения оценивались по шкале Mini Mental State Examination (MMSE). Исследователи отметили выраженное снижение показателей когнитивной функции у достаточно молодых пациентов, объяснив этот факт псевдокогнитивным дефицитом на фоне выраженного астенического синдрома. В то же время в исследовании обнаружена тенденция к спонтанному регрессу жалоб на снижение памяти и внимания с течением времени. Также отмечено отсутствие значимого влияния ноотропной терапии на скорость или интенсивность разрешения указанных симптомов [21].

В другом исследовании, проведенном S. Zilberman-Itskovich и соавт. (Израиль, 2022), сделана оценка состояния 83 взрослых пациентов (средний возраст 48 лет, мужчин – 34,9%) с когнитивными жалобами после COVID-19, которые негативно повлияли на КЖ и сохранялись более 3 мес после положительного теста ПЦР. В исследование не были включены лица с ранее диагностированными когнитивными нарушениями и патологией головного мозга до COVID-19. Состояние респондентов оценивалось дважды: исходно и через 1–3 нед после последнего сеанса лечения – гипербарической оксигенации или плацебо (фиктивного лечения). Сеанс проводился с использованием шкалы SF-36 (The Short Form-36), PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index) для исследования сна, краткой шкалы симптомов (BSI-18, Brief Symptom Inventory-18) для оценки депрессии, тревоги и соматизации, а также краткой шкалы для измерения интенсивности боли (BPI, Brief Pain Inventory), программы компьютеризированного когнитивного тестирования Mindstreams и сканирования головного мозга (магнитно-резонансная томография). Установлено, что на фоне проведения гипербарической оксигенации наблюдалось улучшение внимания ($p = 0,04$) и исполнительных функций ($p = 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Также было отмечено улучшение памяти в обеих группах, что, по мнению исследователей, было связано не столько с

проведением гипербарической оксигенации, сколько с естественным течением заболевания [22].

Таким образом, в представленных исследованиях общая распространенность когнитивных жалоб, а именно таких субъективно отмечаемых симптомов, как снижение памяти и концентрации внимания, среди всех переболевших варьирует в пределах 3,2–9,1%, которые сохраняются не менее 6 мес после клинико-лабораторного выздоровления от острой SARS-CoV-2 инфекции. Также отмечается, что указанные симптомы имеют тенденцию к спонтанному разрешению без применения медикаментозного лечения в рамках естественного течения болезни.

АСТЕНИЧЕСКИЙ СИНДРОМ ПРИ COVID-19

Характерными чертами астенического синдрома являются упадок сил, ощущение переутомления, чрезмерная истощаемость, повышение, а затем снижение нервно-психической возбудимости, ослабление внимания, неустойчивое настроение, общее снижение психической активности. Астения отличается от обычной усталости постоянством, отсутствием прямой связи с перенапряжением, она сохраняется даже после продолжительного отдыха. Слабость может быть настолько выражена, что пациенты порой не могут двигаться, даже принять лекарства. Типично утяжеление симптоматики во второй половине дня, в конце рабочей недели, перед отпуском [23].

На начальном этапе повышается нервно-психическая возбудимость, возрастает чувствительность к зрительным, слуховым, тактильным и другим раздражителям («часы громко тикают», «текст бьет по глазам, буквы объемные, гротескные»), также возрастает и висцеральная чувствительность, что проявляется головными болями, тяжестью, ломотой в теле. Тяжело переносится ожидание чего-либо, пациенты не выносят очередей, нервничают. Часто наблюдаются перепады настроения, чаще астения проявляется в раздражительности, слезливости, тревожности, капризности. При объективном обследовании выявляются истощаемость и отвлекаемость внимания. Часто отмечаются при астеническом синдроме нарушения сна в виде затрудненного засыпания и частых пробуждений [23].

По данным большого количества исследований, в постковидном периоде достаточно часто выявляются признаки астенического синдрома. Так, сведения о распространенности астенических жалоб содержатся в исследовании L.G. Jacobs и соавт. (США, 2020), в котором приняли участие 183 взрослых пациента, получавших стационарное лечение по поводу подтвержденного ПЦР-исследованием COVID-19.

Средний возраст пациентов составил 57 лет; 61,5% респондентов – мужчины. Сразу после завершения стационарного этапа лечения на усталость жаловались 56,8% обследованных респондентов, а через 35 сут при телефонном разговоре 55,0% пациентов все еще сообщали об усталости [16].

В исследовании D. Munblit и соавт. (Россия, 2021) через 218 сут после завершения острого периода COVID-19 усталость отмечали 21,2% респондентов; при этом хронические заболевания легких были связаны с хронической усталостью [11]. R. Mahmud и соавт. (Бангладеш, 2021) выявили астению у 70,7% респондентов в течение 1 мес после разрешения острого периода COVID-19 [12]. При этом астеническая симптоматика была статистически значимо связана с женским полом ($p = 0,03$).

В другом исследовании, выполненном A. Pérez-González и соавт. (Испания, 2022), у госпитализированных пациентов с лабораторно подтвержденным COVID-19 через 6 мес после выписки обнаруживалась более высокая распространенность астенических проявлений (20,9% против 5,3%), чем у негоспитализированных больных ($p = 0,001$) [17].

По данным S. Zilberman-Itskovich и соавт. (Израиль, 2022), астенический синдром был зарегистрирован у 77% пациентов с когнитивным дефицитом спустя 3 мес после обнаружения у них SARS-CoV 2 [22].

В свою очередь, И.А. Золотовская и соавт. (Россия, 2021) при исследовании астенического синдрома в постковидном периоде выявили положительный эффект ноотропной терапии: улучшение отмечено в исследовательских шкалах и различия до и после лечения имели статистическое значение. Самооценка астении по визуально-аналоговой шкале в основной (лечебной) группе в ходе трех визитов менялась следующим образом: $8,4 \pm 2,5$; $5,5 \pm 1,7$ и $3,9 \pm 1,2$ балла. В контрольной: $8,2 \pm 2,7$; $6,9 \pm 2,0$ и $5,1 \pm 1,4$ балла. По шкале MFI-20 показатели в основной группе за время трех визитов на фоне лечения менялись следующим образом: $70,85 \pm 10,1$; $56,21 \pm 13,2$ и $49,03 \pm 10,1$ балла, а в контрольной: $69,99 \pm 11,5$; $65,42 \pm 11,09$ и $56,18 \pm 11,25$ балла. Стоит также отметить, что тяжесть астенического синдрома уменьшается и без применения лечения на фоне естественного течения болезни [21].

Таким образом, авторы исследований получили схожие результаты о распространенности астенических проявлений в постковидном периоде (примерно у 55–70% пациентов в течение 1-го мес после реконвалесценции и 20% спустя 6 мес), а также доказали, что постковидная астения имеет тенденцию к разрешению у большей части больных с течением времени. Существует статистически значимая взаимосвязь астенической симптоматики в постковидном перио-

де с женским полом, наличием хронических бронхолегочных заболеваний и фактом госпитализации по поводу острой COVID-19.

ДЕПРЕССИВНЫЙ СИНДРОМ ПРИ COVID-19

Классически депрессивный синдром включает в себя ухудшение настроения, мыслительную заторможенность и снижение активности. Помимо указанных симптомов встречаются и ипохондрические идеи, нарушения сна, аппетита, чувство вины, снижение самооценки, вегетативные проявления [23]. В критериях диагностики МКБ-10 содержится важное указание на то, что основным проявлением аффективных расстройств является изменение физической активности, эти заболевания цикличны, т. е. наблюдаются периоды обострений и ремиссий. Основными симптомами депрессивного эпизода являются сниженное настроение, утрата чувства удовольствия и упадок сил. Такое состояние монотонно, мало меняется на протяжении не менее 2 нед [24].

S. Zilberman-Itskovich и соавт. (Израиль, 2022) выявили у пациентов с когнитивными расстройствами спустя 3 мес после разрешения острого периода COVID-19 жалобы на бессонницу, уровень которой, по результатам анкетирования PSQI, составил $10,6 \pm 4,0$ балла. Однако уровень дистресса (BSI-18) в глобальном показателе свидетельствует об отсутствии тревожно-депрессивной симптоматики у этих пациентов (средний показатель BSI-18 составил $25,1 \pm 13,6$ балла, в то время как критическим считается значение выше 63 балла) [22].

P. Sadeghipour и соавт. (Иран, 2022) в своем исследовании показали, что женский пол был связан с более высокими шансами развития депрессивных расстройств (≥ 3 баллов по опроснику Patient Health Questionnaire-2) через 3 мес после разрешения острых симптомов COVID-19. У лиц с риском депрессивного расстройства исследователи не обнаружили статистически значимых изменений по прошествии 3 мес. Доля пациентов со значением PHQ-2 ≥ 3 баллов снизилась с 26,1% на 30-е сут до 16,6% через 90 сут наблюдения ($p = 0,05$) [8].

A. Pérez-González и соавт. (Испания, 2022) обнаружили у 5,2% госпитализированных пациентов в постковидном периоде нарушения сна, в то время как в амбулаторной группе пациентов с такими жалобами не было, хотя различия между группами по данному признаку не были статистически значимыми [17].

P.Г. Хабчабов и соавт. (Россия, 2021) в своем исследовании при помощи опросника КЖ Всемирной организации здравоохранения (КЖ-100) обнаружили, что депрессивные проявления появились

у 68,6% пациентов, переболевших COVID-19, из них у 24,8% на это обратили внимание члены семьи [9].

S. Zhu и соавт. (Китай, 2020) обследовали 432 пациента (средний возраст 49 лет; 49% – женщины, в трети случаев – тяжелое течение COVID-19) при выписке из стационара после COVID-19 по шкале Цунга на предмет тревожной симптоматики. У 28,7% пациентов выявлены положительные результаты тестов на клиническую тревогу. При этом тяжелое течение COVID-19 (скорректированный показатель отношения рисков (ОР) 2,533; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,693–3,788) являлось самым сильным фактором риска развития клинически значимой тревоги. Более того, наблюдалась тенденция к повышенному относительному риску тревоги у выживших, которые оставались в больнице более 14 сут (скорректированный ОР 1,482; 95%-й ДИ 0,998–2,200) [25].

Подводя итог проанализированным исследованиям, можно отметить достаточно четкие указания на то, что пациенты после COVID-19 сталкиваются с бессонницей, тревогой, эмоциональными нарушениями, которые, возможно, достигают очерченных депрессивных эпизодов, учитывая, что изменения в настроении пациентов замечают их близкие люди. Указанные эмоциональные нарушения обнаруживают взаимосвязь с женским полом и фактом госпитализации по поводу острой COVID-19. Клинически значимая тревога коррелирует с тяжестью COVID-19 и длительностью пребывания в стационаре. Требуется дальнейшее изучение распространенности расстройств аффективной сферы у лиц с постковидным синдромом, для того чтобы квалифицировать психическое состояние больных по действующим критериям МКБ.

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ

В настоящее время под КЖ понимают характеристику физического, психологического, эмоционального и социального функционирования человека, основанную на его субъективном восприятии [26]. Основным методом оценки КЖ является анкетирование. С этой целью используют различные опросники, но наиболее популярным в клинических исследованиях является опросник SF-36. Вопросы сгруппированы в виде восьми шкал, отражающих основные компоненты КЖ: физическое функционирование, ролевую деятельность, телесную боль, общее здоровье, жизнеспособность, социальное функционирование, эмоциональное состояние и психическое здоровье [27].

В исследовании L.G. Jacobs и соавт. (США, 2020) содержатся сведения о КЖ пациентов, перенесших COVID-19, спустя 35 сут после выписки из стационара. Среди них 13,8% респондентов оценили свою физическую активность как низкую, 24,9% пациентов – как умеренную, 61,3% участников – как полную. Часть больных (3,3%) жаловались на большие затруднения с одеванием, 29,6% пациентов сообщили, что у них отсутствовали или отмечались небольшие затруднения при подъеме с постели. На момент выписки из больницы 52% участников были трудоустроены, но к 35-м сут только 29,9% вернулись к работе. У 60,4% пациентов ухудшились социальные отношения, и только 39,6% респондентов оценили свою социальную жизнь как отличную [16].

J. Li и соавт. (Китай, 2021) провели исследование 120 ранее госпитализированных с диагнозом COVID-19 взрослых пациентов с сохраняющимися жалобами на одышку. Средний возраст составил 50,6 лет; 44,5% из них были мужчинами; 86,6% пациентов получали оксигенотерапию или неинвазивную респираторную поддержку за время лечения. Наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации, одышка в состоянии покоя или тахикардия (ЧСС > 100/мин) являлись критериями исключения. Состояние оценивалось исходно (в среднем через 70 сут после выписки из стационара), и затем через 6 нед и 6 мес. В результате значение теста 6-минутной ходьбой за 6 нед увеличилось на 17,1 м от исходного уровня. Уровень физической компоненты КЖ по опроснику SF-12 на исходном уровне составил 39,69 балла, а через 6 нед – 43,53 балла. Психический компонент оценивался в 44,13 балла, а через 6 нед – в 48,3 балла, что отражает улучшение КЖ у пациентов с течением времени [28].

В результатах исследования M.A. McNarry и соавт. (США, 2022) содержатся сведения о результатах изучения КЖ с использованием шкалы K-BILD (The King's Brief Interstitial Lung Disease) у 281 взрослого пациента спустя 9 мес после острого COVID-19. Средний возраст участников составил 46,6 лет; 88% респондентов – женщины. Усредненный показатель КЖ в начале исследования (59,7 балла) спустя 8 нед практически не изменился (59,8 балла). Однако по отдельным доменам отмечено улучшение: результат по одышке и активности повысился с 40,6 до 41,9 балла, психологический компонент – с 56,9 до 59,2 балла, грудные симптомы – с 56,6 до 59,5 балла, что указывает на улучшение состояния здоровья больных, перенесших COVID-19, с течением времени [29].

S. Dhooira и соавт. (Индия, 2022) проанализировали состояние и КЖ 130 человек на 3–8-й нед от на-

чала острого COVID-19, подтвержденного методом ПЦР. Средний возраст пациентов составил 57 лет; 32% участников – женского пола; у 98% больных выявлена тяжелая форма COVID-19; в 43% случаях требовалась инвазивная респираторная поддержка либо высокопоточная кислородотерапия. Особенностью данного исследования являлось изучение здоровья больных с тяжелым течением COVID-19. Так, критериями включения были персистирующая одышка (mMRC \geq 2 баллов) или гипоксемия покоя (насыщение кислородом \leq 94%) или десатурация при физической нагрузке (\geq 4% падение насыщения кислородом при физической нагрузке) при скрининге; диффузные аномалии, затрагивающие \geq 20% паренхимы легкого.

Все пациенты в данном исследовании получали преднизолон, были распределены на две группы – с высокими и низкими дозами глюкокортикостероидов (ГКС), оценку проводили по шкале Health-Related Quality of Life (HRQoL). Через 6 нед после первых симптомов COVID-19 в группе, получавшей высокие дозы ГКС, среднее значение показателя физической активности составило $59,4 \pm 26,3$ балла, а в группе с низкими дозами ГКС – $62,9 \pm 28,5$ ($p = 0,49$). Показатель социальной адаптации через 6 нед в группе, получавшей высокие дозы ГКС, составил $76,4 \pm 25,4$ балла. В группе с низкими дозами ГКС данный показатель составил $69,2 \pm 29,9$ балла ($p = 0,15$). Также в данном исследовании не выявлено статистически значимой разницы между двумя группами по рентгенологической динамике, изменениям параметров спирографии, уровню сатурации и выраженности одышки. Таким образом, авторы не обнаружили преимущества приема высоких доз преднизолона над низкими [30].

S. Zilberman-Itskovich и соавт. (Израиль, 2022) в своем исследовании оценили КЖ по шкале SF-36 и установили, что в группе пациентов, получающих гипербарическую оксигенацию, отмечено улучшение таких характеристик КЖ, как физическое функционирование и жизнеспособность [22].

P. Sadeghipour и соавт. (Иран, 2022) выполнили исследование 375 пациентов с диагнозом COVID-19, проходивших лечение в ОРИТ. Средний возраст участников составил 62 года; 42% – женщины. Оксигенотерапию получали 46,1% больных, неинвазивную вентиляцию легких – 33,2%, искусственную вентиляцию легких – 20,8%. Исследование состояния проводилось с помощью шкалы оценки функционального статуса после COVID-19 The Post-COVID-19 Functional Status (PCFS) и депрессивных симптомов по опроснику здоровья пациента Patient Health Questionnaire-2 (PHQ-2). Среди выживших в период

с 30-е по 90-е сут доля пациентов с умеренными и тяжелыми функциональными ограничениями (3-я или 4-я степень PCSF) снизилась с 20,0 до 4,8% ($p < 0,001$), увеличилась доля пациентов без функциональных ограничений (0-я степень PCFS) с 4,2 до 15,4% ($p < 0,001$). Статистический анализ выявил, что более молодой возраст был предиктором восстановления функциональной активности на сроке 90 сут, а длительное пребывание в ОРИТ (>7 сут) было связано с увеличением шансов на серьезное функциональное ограничение при трехмесячном наблюдении [8].

E. Zasadzka и соавт. (Польша, 2022) выполнили оценку состояния 30 взрослых пациентов, поступивших в неврологическое реабилитационное отделение после тяжелого течения COVID-19. Обследование включало в том числе измерение функциональной независимости Functional Independence Measure (FIM). В результате оказалось, что значение FIM изменилось с 89 до 117 баллов, что свидетельствует о постепенном увеличении способности к самообслуживанию (самостоятельности) пациентов, переболевших COVID-19 [31].

В другой работе (Германия, 2022) представлен сравнительный анализ результатов обследования 206 пациентов, перенесших COVID-19 в амбулаторных условиях и лиц, никогда не болевших COVID-19 (отрицательный тест на антитела к SARS-CoV-2). В рамках исследования оценивались такие показатели, как частота госпитализаций в течение 7 мес, а также оценка КЖ (EQ-5D-5L, SF-36, PCFS, тест 6-минутной ходьбы). Средний возраст составил 47 лет; 58,2% – женщины. Частота госпитализаций в обеих группах была низкой и сопоставимой (2,4% в группе пациентов, перенесших COVID-19, против 2,9% в контрольной группе). Однако анализ показал снижение КЖ по шкале EQ-5D-5L у пациентов, перенесших COVID-19 (средние значения VAS $83,6 \pm 15,2$ против $88,6 \pm 12,4$ мм в группе контроля, $p < 0,05$) [32].

K. Philip и соавт. (Великобритания, 2022) проанализировали состояние 150 взрослых пациентов, переболевших COVID-19, с продолжающейся одышкой. Средний возраст больных составил 49 лет; из них 81% – женщины. Через 320 сут с момента появления первых симптомов COVID-19 проведена оценка КЖ (SF-36, SF-6D), выраженности одышки (VAS) и уровня тревоги (GAD-7). Оказалось, что, несмотря на то что в одной из групп пациенты выполняли комплекс дыхательных упражнений, в сравнении с группой контроля у них не было выявлено различий по домену физического компонента КЖ. В то же время пациенты основной группы отличались лучшими показателями в психологическом компоненте ($p = 0,047$) [33].

Еще в одно исследование, в котором изучалось КЖ в постковидном периоде, С.И. Филиппченкова и соавт. (Россия, 2022) включили 87 взрослых пациентов (средний возраст 44,8 года; из них 29% – мужчины), и провели анкетирование с помощью SF-36. В исследование не включали лиц, перенесших черепно-мозговые травмы, имевших заболевания ЦНС, психические расстройства, онкологические, эндокринную и соматическую патологию, вредные привычки (злоупотребление алкоголем и наркотическими веществами). По результатам данного опроса, приблизительно 50% пациентов демонстрировали средние показатели физического компонента здоровья и почти 30% участников исследования испытывали сложности в выполнении ежедневных задач [34].

Р.Г. Хабчабов и соавт. (Россия, 2021) провели специальную оценку КЖ у 121 пациента возрасте 41–76 лет (68,6% мужчин) спустя 1 мес после выписки из кардиологического стационара, где они проходили лечение от COVID-19. Участниками становились лица, находившиеся более 2 лет под наблюдением врачей со стенокардией III–IV функционального класса, артериальной гипертензией, сахарным диабетом 2-го типа. Все они перенесли COVID-19, при этом у 3,4% пациентов степень поражения легких варьировала от 30 до 60%, у 15,7% пациентов – 10–30%, у 38,0% больных объем поражения легочной паренхимы составил $< 10\%$, а у 43,0% пациентов диагностировали легкое течение COVID-19. Анкетирование пациентов по опроснику КЖ-100 показало, что спустя 1 мес после перенесенного COVID-19 доля больных с недостаточной энергией для повседневной жизни увеличилась на 23,2% ($p = 0,001$); неудовлетворенных состоянием своего здоровья стало больше на 31,4% ($p = 0,0016$); тревожные и депрессивные переживания стали обнаруживаться на 33,9% чаще ($p = 0,0018$). На 17,3% больше пациентов стали отмечать у себя бессонницу ($p = 0,0005$), а личные взаимоотношения с друзьями и родственниками ухудшились на 63,6% ($p = 0,0027$). При этом количество больных с временной нетрудоспособностью после COVID-19 увеличилось на 15,7% ($p = 0,0003$) по сравнению с их числом до COVID-19 [9].

Таким образом, результаты оценки различных доменов КЖ у пациентов после клинического выздоровления от COVID-19 длительно сохраняются на статистически значимо более низком уровне, чем лиц, не болевших COVID-19. При этом наблюдается снижение как физического, так и психологического компонентов КЖ. После завершения госпитализации как минимум на протяжении 35 сут значительная часть больных сохраняла нетрудоспособность. Некоторые пациенты после завершения острого пе-

риода COVID-19 столкнулись с ограничениями физического функционирования, испытывали трудности с одеванием, подъемом с постели, а также с ограничениями социального функционирования. Во многих исследованиях содержатся доказательства того, что ухудшение КЖ в постковидном периоде носит временный характер и характеризуется тенденцией к постепенному восстановлению. Отдельные авторы обнаруживают взаимосвязь между низкой тяжестью функциональных нарушений с высокими реабилитационными возможностями у лиц молодого возраста. Также отмечается, что ухудшение функционального прогноза у больных связано с длительностью пребывания в ОРИТ более 7 сут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данный обзор посвящен изучению актуального вопроса общественного здравоохранения – медицинских и социальных последствий перенесенного COVID-19, формирующих так называемый постковидный синдром.

Основываясь на анализе опубликованных данных, можно заключить, что пациенты, перенесшие COVID-19, действительно страдают от когнитивных нарушений [11, 17, 21], астении и бессонницы [17]. Однако они имеют тенденцию к спонтанному разрешению с течением времени [21] и в некоторой степени отвечают на доступные в настоящее время методы фармакотерапии и физической реабилитации [22].

Важно отметить, что постковидные астенические проявления чаще были связаны с женским полом [12], наличием хронических бронхолегочных заболеваний [11] и фактом госпитализации по поводу COVID-19 [17], а симптомы тревоги коррелировали с тяжестью COVID-19 и длительностью пребывания в стационаре [25]. В постковидном периоде также обнаружены эмоциональные нарушения, однако они нуждаются в уточнении [8, 9].

По результатам анализа литературы можно констатировать снижение КЖ у пациентов после разрешения острой COVID-19 [9, 32]. Стоит подчеркнуть, что в отличие от многих других инфекционных заболеваний (например, от бактериальной пневмонии), завершившие госпитализацию пациенты не могут вернуться к работе и остаются нетрудоспособными даже спустя 35 сут после выхода из стационара [16]. При этом наблюдается ухудшение результатов по всем доменам, формирующим КЖ. Но с течением времени показатели КЖ постепенно улучшались, особенно у лиц молодого возраста [8]. Напротив, пребывание в ОРИТ более 7 сут коррелировало с худшим реабилитационным прогнозом [8].

Несмотря на существенный прогресс в области исследований постковидных нарушений психики и КЖ, по-прежнему сохраняется ряд открытых вопросов, требующих дальнейшего изучения. Представляет интерес более длительный период наблюдения психопатологической симптоматики у пациентов, перенесших COVID-19, оценка их функционального статуса с течением времени, определение критериев стойкой утраты трудоспособности у лиц с длительным ковидом, а патология аффективной сферы нуждается в квалификации.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 4 May 2023. Edition 141[Internet]. Geneva: World Health Organization;2023 [cited 2023May4]. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---4-may-2023>
2. Заседание президиума Координационного совета при Правительстве по борьбе с распространением новой коронавирусной инфекции на территории Российской Федерации. М.: Дом Правительства; 2021. URL: <http://government.ru/news/43580/>
3. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф., Дубоделов Д.В., Углева С.В., Семенов Т.А. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):381–396. DOI: 10.36233/0372-9311-295.
4. COVID-19. Временные методические рекомендации. Версия 17. М., 2022:259.
5. Shah W., Hillman T., Playford E.D., Hishmeh L. Managing the long term effects of covid-19: summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline. *BMJ*. 2021;372:n136. DOI: 10.1136/bmj.n136.
6. Kamal M., Abo Omirah M., Hussein A., Saeed H. Assessment and characterisation of post-COVID-19 manifestations. *Int. J. Clin. Pract.* 2021;75(3):e13746. DOI: 10.1111/ijcp.13746.
7. Sher L. Post-COVID syndrome and suicide risk. *QJM*. 2021;114(2):95–98. DOI: 10.1093/qjmed/hcab007.
8. Sadeghipour P., Talasaz A.H., Barco S., Bakhshandeh H., Rashidi F., Rafiee F. et al. Durable functional limitation in patients with coronavirus disease-2019 admitted to intensive care and the effect of intermediate-dose vs standard-dose anticoagulation onlll. functional outcomes. *Eur. J. Intern. Med.* 2022;103:76–83. DOI: 10.1016/j.ejim.2022.06.014.
9. Хабчабов Р.Г., Махмудова Э.Р., Абдуллаев А.А., Гафурова Р.М., Исламова У.А., Джанбулатов М.А. Оценка качества жизни и функционального состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов, переболевших COVID-19. *Актуальные проблемы медицины*. 2021;44(4):373–382.
10. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses 2019. URL: <http://prisma-statement.org>
11. Munblit D., Bobkova P., Spiridonova E., Shikhaleva A., Gamirova A., Blyuss O. et al. Incidence and risk factors for persistent symptoms in adults previously hospitalized for

- COVID-19. *Clin. Exp. Allergy*. 2021;51(9):1107–1120. DOI: 10.1111/cea.13997.
12. Mahmud R., Rahman M.M., Rassel M.A., Monayem F.B., Sayeed S.K.J.B., Islam M.S. et al. Post-COVID-19 syndrome among symptomatic COVID-19 patients: A prospective cohort study in a tertiary care center of Bangladesh. *PLoS One*. 2021;16(4):e0249644. DOI: 10.1371/journal.pone.0249644.
 13. COVID-19 rapid guideline: managing the long term effects of COVID-19. Manchester: National Institute for Health and Care Excellence, London: Royal College of General Practitioners, Edinburgh: Healthcare Improvement Scotland SIGN; 2023. URL: www.nice.org.uk/guidance/ng188
 14. Soriano J.B., Murthy S., Marshall J.C., Relan P., Diaz J.V. WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *Lancet Infect. Dis.* 2022;22(4):e102–e107. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00703-9.
 15. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision. Geneva: World Health Organization; 2019. URL: <https://icd.who.int/browse10/2019/en>
 16. Jacobs L.G., Gourna Paleoudis E., Lesky-Di Bari D., Nyirenda T., Friedman T., Gupta A. et al. Persistence of symptoms and quality of life at 35 days after hospitalization for COVID-19 infection. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243882. DOI: 10.1371/journal.pone.0243882.
 17. Pérez-González A., Araújo-Ameijeiras A., Fernández-Villar A., Crespo M., Poveda E. Cohort COVID-19 of the Galicia Sur Health Research Institute. Long COVID in hospitalized and non-hospitalized patients in a large cohort in Northwest Spain, a prospective cohort study. *Sci. Rep.* 2022;12(1):3369. DOI: 10.1038/s41598-022-07414-x.
 18. Яхно Н.Н., Захаров В.В., Локшина А.Б., Коберская Н.Н., Мхитарян Э.А. Деменции: руководство для врачей. 4-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2013:264.
 19. Захаров В.В. Диагностика и лечение умеренных когнитивных нарушений. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2009;1(2):14–18. DOI: 10.14412/2074-2711-2009-32.
 20. Преображенская И.С. Легкие и умеренные когнитивные нарушения: клинические проявления, этиология, патогенез, подходы к лечению. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2013;5(1):59–63. DOI: 10.14412/2074-2711-2013-2401.
 21. Золотовская И.А., Шацкая П.Р., Давыдкин И.Л., Шавловская О.А. Астенический синдром у пациентов, перенесших COVID-19. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(4):25–30. DOI: 10.17116/jnevro202112104125.
 22. Zilberman-Itskovich S., Catalogna M., Sasson E., Elman-Shina K., Hadanny A., Lang E. et al. Hyperbaric oxygen therapy improves neurocognitive functions and symptoms of post-COVID condition: randomized controlled trial. *Sci. Rep.* 2022;12(1):11252. DOI: 10.1038/s41598-022-15565-0.
 23. Жмуров В.А. Психопатология: учебное пособие. Часть II. Иркутск: Издательство Иркутского университета, 1994:217.
 24. Милевский М.М. Классификации болезней в психиатрии и наркологии: пособие для врачей. М.: Триада-Х, 2003:183.
 25. Zhu S., Gao Q., Yang L., Yang Y., Xia W., Cai X. et al. Prevalence and risk factors of disability and anxiety in a retrospective cohort of 432 survivors of Coronavirus Disease-2019 (Covid-19) from China. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243883. DOI: 10.1371/journal.pone.0243883.
 26. Новик А.А., Ионова Т.И., Кайнд П. Концепция исследования качества жизни в медицине. СПб.: Элби, 1999:140.
 27. Pelle A.J., Kupper N., Mols F., de Jonge P. What is the use? Application of the short form (SF) questionnaires for the evaluation of treatment effects. *Quality of Life Research*. 2013;22(6):1225–1230. DOI: 10.1007/s11136-012-0266-8.
 28. Li J., Xia W., Zhan C., Liu S., Yin Z., Wang J. et al. A telerehabilitation programme in post-discharge COVID-19 patients (TERECO): a randomised controlled trial. *Thorax*. 2022;77(7):697–706. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2021-217382.
 29. McNarry M.A., Berg R.M.G., Shelley J., Hudson J., Saynor Z.L., Duckers J. et al. Inspiratory muscle training enhances recovery post-COVID-19: a randomised controlled trial. *Eur. Respir. J.* 2022;60(4):2103101. DOI: 10.1183/13993003.03101-2021.
 30. Dhooria S., Chaudhary S., Sehgal I.S., Agarwal R., Arora S., Garg M. et al. High-dose versus low-dose prednisolone in symptomatic patients with post-COVID-19 diffuse parenchymal lung abnormalities: an open-label, randomised trial (the COLDSTER trial). *Eur. Respir. J.* 2022;59(2):2102930. DOI: 10.1183/13993003.02930-2021.
 31. Zasadzka E., Tobis S., Trzmiel T., Marchewka R., Kozak D., Roksel A. et al. Application of an EMG-Rehabilitation Robot in Patients with Post-Coronavirus Fatigue Syndrome (COVID-19)-A Feasibility Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022;19(16):10398. DOI: 10.3390/ijerph191610398.
 32. Haberland E., Haberland J., Richter S., Schmid M., Hromek J., Zimmermann H. et al. Seven Months after Mild COVID-19: A Single-Centre Controlled Follow-Up Study in the District of Constance (FSC19-KN). *Int. J. Clin. Pract.* 2022;2022:1–8. DOI: 10.1155/2022/8373697.
 33. Philip K.E.J., Owles H., McVey S., Pagnuco T., Bruce K., Brunjes H. et al. An online breathing and wellbeing programme (ENO Breathe) for people with persistent symptoms following COVID-19: a parallel-group, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet Respir. Med.* 2022;10(9):851–862. DOI: 10.1016/S2213-2600(22)00125-4.
 34. Филиппченкова С.И., Евстифеева Е.А., Мурашова Л.А., Воробьев П.А., Воробьев А.П. Оценка качества жизни, связанного со здоровьем у пациентов с постковидным синдромом. *Международный журнал медицины и психологии*. 2022;5(5):24–29.

Информация об авторах

Семакин Алексей Владимирович – аспирант, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ; врач-психиатр, психотерапевт, г. Томск, drsemakinav@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-4723-1494>

Федосенко Сергей Вячеславович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, s-fedosenko@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6655-3300>

Малиновский Владислав Александрович – аспирант, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, vladislav-9509@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0004-8099-3870>

Агаева София Александровна – студентка, СибГМУ, г. Томск, agaeva.sofiyaa@gmail.com, <http://orcid.org/0009-0004-5619-5473>

Старовойтова Елена Александровна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, starovojtova.ea@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4281-1157>

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>

✉ **Семакин Алексей Владимирович**, drsemakinav@gmail.com

Поступила в редакцию 19.06.2023;
одобрена после рецензирования 26.06.2023;
принята к публикации 14.09.2023

Проблемы диагностики патологий шейки матки

Чернов Д.Ю., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Петров И.А., Юрьев С.Ю.,
Жданкина А.А., Герасимов А.В., Зингалюк И.В., Михеенко Г.А.

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

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена современному состоянию проблемы диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Рассмотрены вопросы трансформации классификаций и терминологии патологий шейки матки. Обсуждается роль цитологических (жидкостная и традиционная цитология), молекулярно-биологических (Hybrid Capture Digene Test), иммуногистохимических (p16INK4a, Ki-67) и гистологических методов в диагностике поражений шейки матки. Особое внимание уделено диагностике папилломавирусной инфекции, приведены показатели эффективности скрининговых программ, основанных на первичном определении ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) в сравнении с общепринятыми цитологическими методами. Рассмотрена тропность ВПЧ к различным отделам шейки матки, предрасполагающая к формированию глубоких мультифокальных поражений, а также влияние физического статуса ВПЧ на лечебную тактику и риски рецидивов.

Ключевые слова: плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, ВПЧ, 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: Чернов Д.Ю., Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Петров И.А., Юрьев С.Ю., Жданкина А.А., Герасимов А.В., Зингалюк И.В., Михеенко Г.А. Проблемы диагностики патологий шейки матки. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):201–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-201-209>.

Challenges in the diagnosis of cervical pathologies

Chernov D.Y., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Petrov I.A., Yuriev S.Y., Zhdankina A.A.,
Gerasimov A.V., Zingalyuk I.V., Mikheenko G.A.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

This review deals with the current state of affairs in the diagnosis of cervical squamous intraepithelial lesions. Transformation of classifications of cervical pathologies is considered. The role of cytological (liquid-based and conventional cytology), molecular biological (Digene Hybrid Capture test), immunohistochemical (p16INK4a,

Ki-67), and histologic methods in the diagnosis of cervical lesions is discussed. Particular attention is paid to the diagnosis of human papillomavirus infection. Performance indicators of screening programs based on primary determination of human papillomavirus (HPV) DNA in comparison with common cytological methods are presented. Tropism of HPV to various parts of the cervix, which predisposes to the formation of deep multifocal lesions, as well as the influence of the physical status of HPV on the treatment strategy and risks of relapse are considered.

Keywords: cervical squamous intraepithelial lesions, cervical intraepithelial neoplasia, HPV, diagnosis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and 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: Chernov D.Y., Tikhonovskaya O.A., Logvinov S.V., Petrov I.A., Yuriev S.Y., Zhdankina A.A., Gerasimov A.V., Zingalyuk I.V., Mikheenko G.A. Challenges in the diagnosis of cervical pathologies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(4):201–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-201-209>.

ВВЕДЕНИЕ

Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки в современной медицинской практике являются одними из наиболее часто встречающихся патологий среди женщин репродуктивного возраста. Ведущим этиологическим фактором данных состояний является инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ) и его прямое цитопатическое воздействие на эпителий шейки матки. Главными проблемами диагностики и лечения патологий шейки матки являются высокая частота персистирующей латентной ВПЧ-инфекции с вовлечением железистого компонента эндоцервикса, что в свою очередь приводит к неполной элиминации вируса, неполноценной эксцизии измененных тканей, и, как следствие, высокой частоте рецидивов. В настоящее время продолжается поиск оптимальных подходов к диагностике и оценке прогноза течения данных патологий, в том числе путем совершенствования скрининговых программ.

ХРОНОЛОГИЯ ТЕРМИНОЛОГИИ ПАТОЛОГИИ ШЕЙКИ МАТКИ

Термин «дисплазия» применительно к патологии шейки матки был введен в 1953 г. и уже с 1956 г. было предложено его использование в одном из разделов гистологической классификации заболеваний шейки матки [1]. С позиций патоморфологии дисплазия характеризуется интенсивной пролиферацией атипических клеток базальных и парабазальных слоев (клеточный и ядерный полиморфизм, повышение митотической активности) с нарушением стратификации эпителия, но без вовлечения в процесс поверхностного слоя и стромы. В зависимости от объема эпителиального пласта, занимаемого атипичными клетками, были определены три степени

дисплазии: слабая, умеренная, тяжелая. Карцинома *in situ* рассматривалась обособленно и, согласно классификации FIGO, относилась к нулевой стадии злокачественного поражения шейки матки. Впоследствии было доказано отсутствие четких гистологических критериев различия карциномы *in situ* и тяжелой дисплазии, а также возможное сходство цитологических изменений [2].

В 1973 г. R.M. Richart предложил единую концепцию неопластических изменений шейки матки, на основе которой для описания этапов опухолевой прогрессии был предложен термин «цервикальная интраэпителиальная неоплазия» (cervical intraepithelial neoplasia – CIN) [3]. Существенным отличием от предыдущего подхода к классификации являлось включение карциномы *in situ* в группу тяжелых дисплазий, основываясь на сходстве генетических аномалий клеток, прогноза и клинических исходов.

В 1974–1976 гг., благодаря определению Н. zur Hausen этиологической роли ВПЧ в развитии дисплазии и рака шейки матки [4], патогенезе вирусного поражения, регенераторном потенциале тканей и возможности самоэлиминации вируса, концепция CIN как облигатного предрака была поставлена под сомнение.

В 1988 г. Национальным институтом по изучению проблем рака (США) была разработана и представлена новая классификация для описания цервикальных мазков The Bethesda System, ознаменовав собой введение термина «плоскоклеточное интраэпителиальное повреждение» (squamous intraepithelial lesion – SIL) [5]. Согласно данному подходу, предусматривается бинарное разделение диспластических изменений шейки матки на «плоскоклеточные изменения низкой степени потенциала злокачественности» (low-grade squamous intraepithelial lesion –

L-SIL), соответствующие CIN I, и «плоскоклеточные изменения высокой степени потенциала злокачественности» (high-grade squamous intraepithelial lesion – H-SIL), соответствующие CIN II–III, в том числе карциноме *in situ* (CIS).

Для обозначения нормальной цитологической картины введена категория «отсутствие интраэпителиального поражения или признаков малигнизации» (negative for intraepithelial lesion or malignancy – NILM). Новая классификация этиологически и патогенетически обоснована, соотносится с механизмами запуска и течения патологического процесса в зависимости от ассоциации с ВПЧ высокого или низкого онкогенного риска. Данные категории было предложено использовать также для морфологического описания гистологического материала. Таким образом, стремление к использованию унифицированной терминологии для гистологических и цитологических заключений несомненно повышает доказательность диагностики.

В настоящее время рекомендуется использовать L-SIL в качестве диагностической категории для описания изменений, связанных с транзитной инфекцией ВПЧ, в то время как H-SIL применяется для определения истинного предракового поражения. Однако в зависимости от качественных и количественных критериев, некоторые неоднозначные морфологические находки могут подпадать под категорию «атипичных клеток плоского эпителия» (atypical squamous cells – ASCs). Данная категория включает в себя «атипичные клетки плоского эпителия неясного значения» (atypical squamous cells of undetermined significance – ASC-US) и «Атипичные клетки плоского эпителия, нельзя исключить H-SIL» (atypical squamous cells, HSIL cannot be excluded – ASC-H), выделенные на основании предполагаемой степени поражения (L-SIL или H-SIL соответственно) [6]. Для обозначения аномалий клеток эндоцервикального эпителия были введены термины «атипичные клетки железистого эпителия» (atypical glandular cells – AGC), «атипичные клетки железистого эпителия, возможно неоплазия (favor neoplastic – AGC), а также «аденокарцинома *in situ*» (AIS).

Согласно Международному классификатору болезней (МКБ) 11-го пересмотра в редакции от 2022 г., аббревиатура CIN полностью исключена из использования. CIN I заменена на «Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки низкой степени потенциала злокачественности». В описании L-SIL указывается, что это «состояние шейки матки, вызванное хронической инфекцией», таким образом, L-SIL в настоящее время не считается вариантом дисплазии шейки матки. CIN 2 и CIN 3 объединены

категорией «плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки высокой степени потенциала злокачественности» и представляют класс *Carcinoma in situ of cervix uteri* (интраэпителиальная (на месте) карцинома шейки матки). Рубрики Cervical intraepithelial neoplasia grade II и Cervical intraepithelial neoplasia grade III были полностью исключены из новой редакции [7]. Аббревиатура SIL официально заменила аббревиатуру CIN в клинической практике.

Таким образом, за последние 70 лет было предложено несколько подходов к классификации поражений шейки матки. Несмотря на смещение акцента в сторону разработки клинически-ориентированной классификации The Bethesda System, попытки стандартизации терминологии, существующая неопределенность в использовании понятий CIN и SIL демонстрируют отсутствие единых подходов к диагностике и лечению патологий шейки матки.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Информационным центром ВПЧ Каталонского института онкологии совместно с Международным агентством по изучению рака опубликованы эпидемиологические данные по мировой распространенности ВПЧ-инфекции, вызванной ВПЧ 16-го и 18-го типов у женщин старше 15 лет в зависимости от результатов цитологического скрининга. Женщины с нормальной цитологической картиной в 3,9% случаев инфицированы ВПЧ, и у 25,8% женщин, имеющих L-SIL, выявлялся ВПЧ. Практически каждая вторая женщина с H-SIL была инфицирована ВПЧ (51,9%) [8].

По данным D. Egemen и соавт. (2020), 87% L-SIL, 95% H-SIL и 54% ASC-US ассоциированы с инфицированием ВПЧ других высокоонкогенных серотипов, в том числе указанных выше [9]. В Российской Федерации данные показатели инфицированности ВПЧ 16-го и 18-го типов составили 9,4% для категории NILM, 35,1% – для L-SIL и 56% – для H-SIL [10]. Нельзя не упомянуть от том, что данные высокоонкогенные штаммы являются одними из самых распространенных как на территории нашей страны, так и в мировой популяции.

Носители ВПЧ-инфекции наиболее часто выявляются в группе женщин 20–29 и 30–39 лет, затем в возрастной группе 40–49 лет [11]. Если обратить внимание на распространенность поражений шейки матки, можно заметить, что она меняется в зависимости от популяции и в среднем составляет 1,5–7,7%, для L-SIL и 0,4–1,5% для H-SIL [12–14]. Согласно статистике, в клинической практике около 1,7%

цитологических заключений приходится на категорию L-SIL, 0,3% – на H-SIL, 4,1% – на неопределенные результаты категории ASC, такие как ASC-US и ASC-H и 0,21% – на категорию AGC [9].

РОЛЬ ВПЧ-ИНФЕКЦИИ

Преобладающая ВПЧ-ассоциированная этиология рака шейки матки доказана [4]. Наряду с общим пониманием патогенетических процессов, вызываемых персистенцией ВПЧ, необходимо иметь представление о физическом статусе ВПЧ и его тропности вируса к различным отделам шейки матки. Известно, что ВПЧ высокого онкогенного риска поражает полипотентные стволовые и пролиферирующие клетки в формирующейся зоне трансформации, а также в расположенном выше канале и эндоцервикальных криптах [15].

По данным J.Y. Chen и соавт. (2018), вовлечение железистого компонента в патологический процесс наблюдается у 82,57% ВПЧ-инфицированных женщин. Персистенция ВПЧ в криптах цервикального канала в 80,77% случаев сочетается с положительными краями зоны резекции и приводит к рецидиву после хирургического лечения. Рецидив при исходном отсутствии железистого поражения наблюдался только у 18,23% пациенток с положительным краем зоны резекции [16]. У 94% больных глубина поражения крипт не превышает 5 мм латерально от стенки цервикального канала, однако их расположение на расстоянии до 4 см от эктоцервикса является причиной неполноценной эксцизии в области эндоцервикального края [17].

Женщины с положительными краями резекции эндоцервикса подвержены высокому риску рецидива поражений. Кроме того, отрицательные края резекции после ножевой конизации не являются гарантом отсутствия отдаленных рецидивов [18].

По данным M. Arbyn и соавт. (2017), наличие ВПЧ высокого онкогенного риска после лечения повышает риск рецидива до 28,4%, тогда как отрицательный результат снижает степень риска до 0,8%. При сочетании положительного края резекции и положительного результата ВПЧ риск рецидива заболевания максимален и составляет 53%. При отрицательном крае резекции и персистенции ВПЧ риск рецидива составляет 13%, а при отрицательном статусе ВПЧ указанный риск является низким вне зависимости от состояния краев резекции и составляет 1% [19]. Таким образом, наличие ВПЧ высокого онкогенного риска, высокая вирусная нагрузка до и после проведенного лечения являются более точным предиктором неудач в лечении, чем статус краев резекции [19, 20].

ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЯ

Цитологическое исследование соскобов эпителия шейки матки с интерпретацией результатов по терминологической системе Bethesda используется во всех программах цервикального скрининга. Чувствительность и специфичность цитологического метода для выявления L-SIL составляет 80,31 и 68,46% соответственно, в то время как для выявления H-SIL – 97,14 и 85,58% [21]. Тем не менее около 30% новых случаев рака шейки матки приходится на женщин, прошедших скрининг и получивших отрицательный результат из-за неправильной интерпретации или ошибок при взятии проб [22]. При сравнении методов жидкостной и традиционной цитологии многие авторы утверждают, что жидкостная цитология способствует повышению качества и адекватности цитологического материала, является более предпочтительной с позиций экономической эффективности, кроме того, к преимуществам относят возможность использования образца для последующего тестирования на ВПЧ [22–24].

Предполагаемая положительная вероятность диагноза (PPV) для указанных вариантов скрининга сопоставима. Прогноз вероятности отсутствия заболевания у женщин с отрицательным результатом выше при обследовании путем жидкостной цитологии [25]. Систематический обзор публикаций 1991–2007 гг., проведенный в рамках Европейских рекомендаций по обеспечению качества скрининга рака шейки матки, показал, что хотя жидкостная и обычная цитология имели одинаковую чувствительность и специфичность в выявлении дисплазий, начиная со стадии CIN II (H-SIL), специфичность в отношении ASC-US у жидкостной цитологии была ниже [26].

У большинства ВПЧ-позитивных женщин цитологическое исследование не выявляет какой-либо патологии. Установлено, что у женщин с положительной реакцией на ВПЧ и нормальной цитологией в течение 5 лет дисплазии (H-SIL) диагностировали в 6,4% случаев [27]. Именно поэтому цитологическое исследование имеет ограниченные возможности в диагностике предраковых и злокачественных поражений шейки матки. Пораженные железы, часто расположенные глубоко в цервикальном канале, представляют трудности в плане получения адекватного материала для цитологического исследования. Патологические изменения в полученном материале могут быть слабо выражены или отсутствовать, так как часто процесс расположен глубоко в криптах, при этом многослойный плоский сквамозный эпителий (МПСЭ) практически не изменен [28].

В связи с этим В.Г. Черенков и соавт. (2019) настаивают на необходимости забора материала для цитологического и молекулярно-биологического исследования не только с зоны трансформации, а также с крипт цервикального канала [29]. Кроме того, рекомендуется проведение биопсии с захватом эндоцервикального компонента перед планированием лечения, так как именно персистенция ВПЧ в криптах является причиной последующего прогрессирования поражений, а также рецидивов, особенно при H-SIL [30, 31].

Гистологический метод диагностики является золотым стандартом диагностики патологии шейки матки. При сопоставлении результатов цитологического исследования и окончательного гистологического диагноза ряд авторов отмечает значительные расхождения. У 20% пациентов с цитологическим диагнозом L-SIL не подтверждают наличие дисплазии, у 45,52% выявляют CIN I (L-SIL), у 20,89% – CIN II (H-SIL), у 04,47% – CIN III (H-SIL). Однако при H-SIL в 0,9% случаев не подтверждают наличие дисплазии, CIN I (L-SIL) выявляется у 15,09%, CIN II (H-SIL) – у 16,98%, CIN III (H-SIL) – у 50,94%. Рак шейки матки выявляется в 5,6% случаев H-SIL [32].

Сравнительный анализ гистологических заключений после первично-операционной (эксцизионной) биопсии у пациентов с ранее проведенной прицельной биопсией шейки матки показал более высокую положительную корреляцию в контексте CIN I (L-SIL) и CIN III (H-SIL) по сравнению с CIN II (H-SIL). У 1,8% пациенток с CIN III (H-SIL) по результатам прицельной биопсии гистологическое исследование материала, полученного эксцизионными методами, выявило рак шейки матки [33].

Использование маркеров клеточной пролиферации, таких как Ki-67 и p16/INK4a, при иммуногистохимическом исследовании может способствовать повышению точности и информативности рутинного гистологического исследования, снижению частоты ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Репликация ДНК ВПЧ начинается с образования онкопротеинов, E6 и E7, способствующих функциональной инактивации генов белка ретинобластомы (retinoblastoma protein – pRb), оказывающего антипролиферативный эффект через экспрессию белка p16/INK4a [34].

Трансформирующее действие ВПЧ приводит к гиперэкспрессии данного белка, связанного с pRb, по принципу обратной отрицательной связи [35]. Ki-67 является ядерным негистоновым белком, активно экспрессирующимся во время клеточного деления (маркер клеточной пролиферации) [36]. Высокая экспрессия Ki-67 ассоциирована с выра-

женностью диспластических изменений шейки матки, но не связана с ВПЧ-инфекцией [37].

Известно, что повышение степени диспластических изменений эпителия шейки матки связано с ростом экспрессии данных маркеров [38]. Большинство L-SIL сочетается с повышенным уровнем Ki-67. Приблизительно в трети случаев L-SIL может быть обнаружена выраженная диффузная экспрессия p16INK4a в нижней части эпителиального пласта. Гиперэкспрессия p16INK4a может выступать в качестве надежного маркера ВПЧ-инфекции высокого и промежуточного онкогенного риска [39]. Однако стоит иметь в виду, что не все p16INK4a-ассоциированные повреждения цервикального эпителия связаны с ВПЧ, и угнетение функции генов апоптоза может быть вызвано мутациями клеточных генов, не связанных с папилломавирусами.

Р.Р. Pereira и соавт. (2022) доказали возможную иммунопозитивность нормальных тканей, участков трубной метаплазии (желез, выстланных клетками, напоминающими эпителий маточной трубы) и цервикального эндометриоза при определении экспрессии как p16, так и Ki-67 [40]. Таким образом, наибольшую диагностическую значимость имеет одновременное обнаружение (ко-экспрессия) как p16INK4a, так и Ki-67 в результате иммуногистохимического исследования в виде двойного окрашивания. Двойное определение p16/Ki-67 может выступать надежным инструментом стратификации риска среди ВПЧ-положительных женщин, особенно при CIN II–III (H-SIL) [41]. Степень ко-экспрессии белков p16/Ki67 коррелирует с выраженностью цервикальных поражений и свидетельствует о прогрессировании процесса [42].

НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИИ ШЕЙКИ МАТКИ

В настоящее время в Российской Федерации и мире проблема диагностики, лечения и профилактики плоскоклеточных и железистых поражений шейки матки остается высоко актуальной. Это связано со многими причинами, в том числе с необходимостью оптимизации скрининговых программ и лечебно-диагностических подходов [43].

Международная федерация акушеров-гинекологов рекомендует в качестве скрининга цитологическое исследование (до 60 лет) и тестирование на вирус папилломы человека (до 65 лет) каждые 5 лет. Общество гинекологов-онкологов и Американское общество кольпоскопии и цервикальной патологии с 2015 г. рекомендует первичный скрининг только на ВПЧ для женщин в возрасте 25 лет и старше. Всемирная организация здравоохранения (2014)

рекомендует в качестве скрининга тестирование на ВПЧ, цитологическое и визуальное обследование с использованием ацетотеста хотя бы один раз для каждой женщины в возрастной группе 30–49 лет [25]. ПЦР-диагностика ВПЧ все чаще заменяет цитологию в качестве основного скринингового теста в таких странах, как США, Австралия и Англия [44–46].

Общепринятым стандартом диагностики персистирующей папилломавирусной инфекции является обнаружение ДНК вируса в соскобе эпителиальных клеток шейки матки методом ПЦР (Hybrid Capture Diegene Test) с определением критической концентрации ДНК (вирусной нагрузки), с оценкой физического статуса, степени онкогенного риска (высокого или промежуточного) и типа инфицирования (одиночное или множественное).

Несмотря на описанные в литературе случаи ВПЧ-негативных поражений шейки матки, в том числе злокачественного характера, L. Rodríguez-Carunchio и соавт. (2015) в большинстве случаев связывают обнаружение таких форм с артефактами методик исследования и получением ложноотрицательных результатов, что подтверждалось обнаружением ДНК вируса при использовании более чувствительных методов ПЦР-диагностики [47].

Согласно метаанализу, проведенному T. Malagón и соавт. (2020), применение технологии Hybrid capture для диагностики ВПЧ-инфекции снижает риск последующего возникновения и темпы прогрессирования цервикальных дисплазий в большей степени, чем использование других ПЦР-методов у женщин с отсутствующей патологией по результатам цитологического исследования [27].

По данным обзора Cochrane Library, чувствительность Hybrid capture в контексте выявления предраковых поражений шейки матки выше, чем у методов цитологической диагностики. У 20 женщин из 1 000, прошедших скрининг, будут диагностированы предраковые изменения. Тест на ВПЧ позволит идентифицировать 18 человек из этой группы, в то время как цитологическое исследование позволит выявить 15 женщин. Отрицательный результат теста на ВПЧ является более обнадеживающим, чем отрицательные результаты цитологии, поскольку у цитологического теста больше шансов быть ложноотрицательным [48].

Существуют разногласия относительно выбора метода скрининга для возрастной группы 25–30 лет. Результаты многочисленных публикаций свидетельствуют о том, что в указанном возрасте характерна транзитная папилломавирусная инфекция. При этом самоэлиминация вируса достигает 90%, в то время как у женщин старше 30 лет чаще наблю-

дается персистенция ВПЧ в течение 2 лет и более, что является одним из факторов риска прогрессирования поражений [49–51]. Следовательно, скрининг на ВПЧ в возрасте до 30 лет чреват высокими ложноположительными результатами, что может привести к большому количеству необоснованных лечебных манипуляций. Несмотря на это, первичный скрининг на ВПЧ у женщин данной возрастной группы связан с более высокой частотой выявления CIN III (H-SIL) в сравнении с цитологическим скринингом и, по мнению O. Feldstein и соавт. (2023), должен рассматриваться в качестве основного диагностического подхода в этой возрастной группе [52].

Y.J. Tai и соавт. (2017) была проведена оценка связи риска прогрессирования заболевания и использованных лечебно-диагностических подходов у 53 тыс. женщин с диагнозом L-SIL [53]. Данные подходы представляли собой повторные цитологические исследования, кольпоскопию, биопсию шейки матки или кюретаж цервикального канала, криотерапию и эксцизионные методы лечения. Результаты показали, что криотерапия и эксцизионные процедуры существенно снижают риск прогрессирования поражений, предположительно за счет эффективной элиминации ВПЧ. C. Firnhaber и соавт. (2017) и G. St.-Martin и соавт. (2021) также утверждают о необходимости активной диагностической и лечебной тактики в случаях L-SIL [54, 55].

В то же время C. Vuick и соавт. (2020), а также S.J. Min и соавт. (2020) указывают на отсутствие необходимости углубленного скрининга и последующего лечения в группе молодых женщин при выявлении L-SIL по причине низкого риска формирования злокачественного поражения и высокой вероятности спонтанной элиминации ВПЧ у данной возрастной группы пациенток [56, 57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прямая патогенетическая связь плоскоклеточных интраэпителиальных и железистых поражений с развитием рака шейки матки диктует необходимость поиска новых диагностических подходов с целью своевременного выявления и лечения данных состояний, снижения риска их прогрессирования.

Длительная латентная персистенция ВПЧ, особенно в цервикальных криптах, приводит к повышению риска возникновения и рецидивов плоскоклеточных интраэпителиальных и железистых поражений. Таким образом, современные лечебно-диагностические подходы должны быть направлены на повышение эффективности диагностики патологий шейки матки путем оценки степени вовлечения шейки матки

и особенно цервикальных крипт в патологический процесс, а также лечения с определением оптимального объема эксцизии. Поставленная задача может решаться путем комплексной оценки результатов цитологических, молекулярно-биологических, гистологических и иммуногистохимических методов исследования, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью в отношении диагностики патологий шейки матки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Reagan J.W., Hamonic M.J. Dysplasia of the uterine cervix. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1956;63(6):1236–1244. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1956.tb32133.x.
2. Fu Y.S., Reagan J.W., Richart R.M. Definition of precursors. *Gyn. Oncol.* 1981;12(2 Pt 2):S220–231. DOI: 10.1016/0090-8258(81)90076-7.
3. Richart R.M. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol. Annu.* 1973;8:301–328.
4. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2(5):342–350. DOI: 10.1038/nrc798.
5. Solomon D., Davey D., Kurman R., Moriarty A., O'Connor D., Prey M. et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287(16):2114–2119. DOI: 10.1001/jama.287.16.2114.
6. Alrajjal A., Pansare V., Choudhury M.S.R., Khan M.Y.A., Shidham V.B. Squamous intraepithelial lesions (SIL: LSIL, HSIL, ASCUS, ASC-H, LSIL-H) of Uterine Cervix and Bethesda System. *Cytojournal.* 2021;18:16. DOI: 10.25259/Cytojournal_24_2021.
7. Давыдов А.И., Лебедев В.А., Шахламова М.Н., Чилова Р.А., Соколова И.И., Пашков В.М. Изменения в классификациях ВОЗ в отношении плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Как они повлияли на тактику лечения? *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2022;21(6):93–98. DOI: 10.20953/1726-1678-2022-6-93-98.
8. Bruni L., Albero G., Serrano B., Mena M., Collado J.J., Gómez D. et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 10 March 2023.
9. Egemen D., Cheung L.C., Chen X., Demarco M., Perkins R.B., Kinney W. et al. Risk Estimates Supporting the 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines. *J. Low Genit. Tract Dis.* 2020;24(2):132–143. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000529.
10. Bruni L., Albero G., Serrano B., Mena M., Collado J.J., Gómez D. et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Russian Federation. Summary Report 22 October 2021.
11. Faizuloev E.B., Kaira A.N., Uzbekov T.R., Volynskaya E.A., Svitich O.A., Zverev V.V. The prevalence of high- and low-risk human papillomaviruses in the Russian Federation. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2021;36:192–200. DOI: 10.17116/molgen20213904139.
12. Sanad A.S., Kamel H.H., Hasan M.M. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in patients attending Minia Maternity University Hospital. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2014;289(6):1211–1217. DOI: 10.1007/s00404-013-3109-0.
13. Benard V.B., Castle P.E., Jenison S.A., Hunt W.C., Kim J.J., Cuzick J. et al. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. Population-Based Incidence Rates of Cervical Intraepithelial Neoplasia in the Human Papillomavirus Vaccine Era. *JAMA Oncol.* 2017;3(6):833–837. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.3609.
14. Shahida S.M., Lipi L.B., Rifat J.A., Kutubi A., Haq K., Afroz R. et al. Prevalence of Cervical Intraepithelial Neoplasia in four Upazila of Dhaka Division. *Mymensingh Med. J.* 2019;28(3):655–661.
15. Медведева Ж.Н., Подгорная А.С., Захарко А.Ю., Мурашко О.В. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: практическое пособие. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2021:40.
16. Chen J.Y., Wang Z.L., Wang Z.Y., Yang X.S. The risk factors of residual lesions and recurrence of the high-grade cervical intraepithelial lesions (HSIL) patients with positive-margin after conization. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(41):e12792. DOI: 10.1097/MD.00000000000012792.
17. Короленкова Л.И. Влияние морфологических особенностей цервикального канцерогенеза на эффективность диагностики и лечения CIN III и микроинвазивного рака шейки матки. *Opinion Leader.* 2018;S1:80–85.
18. Chen W., Dong Y., Liu L., Jia L., Meng L., Liu H. et al. Practical Model for Residual/Recurrent Cervical Intraepithelial Lesions in Patients with Negative Margins after Cold-Knife Conization. *J. Clin. Med.* 2022;11(19):5634. DOI: 10.3390/jcm11195634.
19. Arbyn M., Redman C.W.E., Verdoordt F., Kyrgiou M., Tzafetas M., Ghaem-Maghami S. et al. Incomplete excision of cervical precancer as a predictor of treatment failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2017;18(12):1665–1679. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30700-3.
20. Alder S., Megyessi D., Sundström K., Östensson E., Mints M., Belkić K. et al. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia as a predictor of the risk of recurrent disease—a 16-year follow-up study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;222(2):172.e1–172.e12. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.08.042.
21. Kang M., Ha S.Y., Cho H.Y., Chung D.H., Kim N.R., An J. et al. Comparison of papanicolaou smear and human papillomavirus (HPV) test as cervical screening tools: can we rely on HPV test alone as a screening method? An 11-year retrospective experience at a single institution. *J. Pathol. Transl. Med.* 2020;54(1):112–118. DOI: 10.4132/jptm.2019.11.29.
22. Kyrgiou M., Arbyn M., Bergeron C., Bosch F.X., Dillner J., Jitnet M. et al. Cervical screening: ESGO-EFC position paper of the European Society of Gynaecologic Oncology (ESGO) and the European Federation of Colposcopy (EFC). *Br. J. Cancer.* 2020;123(4):510–517. DOI: 10.1038/s41416-020-0920-9.
23. Khakwani M., Parveen R., Azhar M. Comparison of PAP smear and liquid based cytology as a screening method for cervical carcinoma. *Pak. J. Med. Sci.* 2022;38(7):1827–1831. DOI: 10.12669/pjms.38.7.5742

24. Armstrong S.F., Guest J.F. Cost-effectiveness and cost-inefficiency of cervical cancer screening with liquid based cytology compared with conventional cytology in Germany. *Clin. Out. Res.* 2020;12:153–166. DOI:10.2147/CEOR.S234385.
25. Елгина С.И., Золоторевская О.С., Захаров И.С., Мозес В.Г., Рудаева Е.В., Разумова В.А. и др. Цитологический скрининг в диагностике рака шейки матки. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2019;(3):37–40.
26. Arbyn M., Bergeron C., Klinkhamer P., Martin-Hirsch P., Siebers A.G., Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet. Gynecol.* 2008;111(1):167–177. DOI: 10.1097/01.AOG.0000296488.85807.b3.
27. Malagón T., Volesky K.D., Bouten S., Laprise C., El-Zein M., Franco E.L. Cumulative risk of cervical intraepithelial neoplasia for women with normal cytology but positive for human papillomavirus: Systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cancer.* 2020;147(10):2695–2707. DOI: 10.1002/ijc.33035.
28. Волоченко Н.Н., Борисова О.В. Ошибки цитологической диагностики заболеваний шейки матки. *Новости клинической цитологии России.* 2020;24(1):17–22. DOI: 10.24411/1562-4943-2020-10103.
29. Черенков В.Г., Петров А.Б., Иванченко О.Г., Александров А.С. От территориального скрининга к контролю лечения HSIL и снижению заболеваемости и смертности от рака шейки матки. *Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого.* 2019;1(113):94–97. DOI: 10.34680/2076-8052.2019.1(113).94-97.
30. Papoutsis D., Underwood M., Williams J., Parry-Smith W., Panikkar J. Expansile endocervical crypt involvement by CIN2-3 as a risk factor for high grade cytology recurrence after cold coagulation cervical treatment. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2020;80(9):941–948. DOI: 10.1055/a-1202-2157.
31. Шумейкина А.О., Красильников С.Э., Кедрова А.Г., Мансурова А.С., Чернышова А.Л., Качесов И.В. и др. Риски и лечение рецидивов интраэпителиальных повреждений шейки матки. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2022;18(3):100–106. DOI: 10.17650/1994-4098-2022-18-3-100-106.
32. Asotic A., Taric S., Asotic J. Correlation of cervical smear and pathohistological findings. *Med. Arch.* 2014;68(2):106–109. DOI: 10.5455/medarh.2014.68.106-109.
33. Mandić A., Stevanović N., Gutic B., Maričić S., Nikin Z., Šolajić N. Histopathological correlation of cervical biopsy and tissue after excision in patients with precancerous lesions of the cervix. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2021;304(1):223–230. DOI: 10.1007/s00404-020-05911-w.
34. Derby A., Mekonnen D., Woldeamanuel Y., Van Ostade X., Abebe T. HPV E6/E7 mRNA test for the detection of high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): a systematic review. *Infect. Agent. Cancer.* 2020;15:9. DOI: 10.1186/s13027-020-0278-x.
35. Nam E.J., Kim J.W., Hong J.W., Jang H.S., Lee S.Y., Jang S.Y. et al. Expression of the p16 and Ki-67 in relation to the grade of cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infection. *J. Gynecol. Oncol.* 2008;19(3):162–168. DOI: 10.3802/jgo.2008.19.3.162.
36. Piri R., Ghaffari A., Azami-Aghdash S., Ali-Akbar Y.P., Saleh P. et al. Ki-67/MIB-1 as a Prognostic Marker in Cervical Cancer – a Systematic Review with Meta-Analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2015;16(16):6997–7002. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.16.6997.
37. Sarma U., Das G.C., Sarmah B. Predictive value of marker of proliferation Ki-67 and cell cycle dependent protein kinase inhibitor P16INK4a in cervical biopsy to determine its biological behaviour. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2021;22(7):2237–2241. DOI: 10.31557/APJCP.2021.22.7.2237.
38. Hosseini M.S., Talayeh M., Afshar Moghaddam N., Arab M., Farzaneh F., Ashrafganjoei T. Comparison of Ki67 index and P16 expression in different grades of cervical squamous intraepithelial lesions. *Caspian J. Intern. Med.* 2023;14(1):69–75. DOI: 10.22088/cjim.14.1.69.
39. Kamal M. Cervical pre-cancers: biopsy and immunohistochemistry. *Cytojournal.* 2022;19:38. DOI: 10.25259/CMAS_03_13_2021.
40. Pereira P.P., Zanine R.M. Diagnostic value of p16 and Ki-67 expression in cervical glandular intraepithelial disease: A review. *Ann. Diagn. Pathol.* 2023;62:152054. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2022.152054.
41. Wright T.C. Jr., Stoler M.H., Ranger-Moore J., Fanf Q., Volkir P., Safaeian M. et al. Clinical validation of p16/Ki-67 dual-stained cytology triage of HPV-positive women: Results from the IMPACT trial. *Int. J. Cancer.* 2022;150(3):461–471. DOI: 10.1002/ijc.33812.
42. Клинышкова Т.В., Самосудова И.Б., Буян М.С. Сравнительная оценка результатов иммуноцитохимического исследования коэкспрессии p16/Ki-67 среди больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями, ассоциированными с вирусом папилломы человека. *Гинекология.* 2021;23(4):341–345. DOI: 10.26442/20795696.2021.4.200949.
43. Роговская С.И., Бадалова Л.А. Оценка клинической и экономической эффективности методов диагностики цервикальных неоплазий. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2011;11(4):39–44.
44. Perkins R.B., Guido R.S., Castle P.E., Chelmow D., Einstein M.H., Garcia F. et al. 2019 ASCCP Risk-based management consensus guidelines for abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 2020;24(2):102–131. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000525.
45. Cancer Council Australia Cervical Cancer Screening Guidelines Working Party. National Cervical Screening Program: Guidelines for the management of screen-detected abnormalities, screening in specific populations and investigation of abnormal vaginal bleeding. Sydney: Cancer Council Australia; 2022.
46. Public Health England. Cervical screening: implementation guide for primary HPV screening. London: Public Health England; 201940.
47. Rodríguez-Carunchio L., Soveral I., Steenbergen R.D., Torné A., Martínez S., Fusté P. et al. HPV-negative carcinoma of the uterine cervix: a distinct type of cervical cancer with poor prognosis. *BJOG.* 2015;122(1):119–127. DOI: 10.1111/1471-0528.13071.
48. Koliopoulos G., Nyaga V.N., Santesso N., Bryant A., Martin-Hirsch P.P., Mustafa R.A. et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population.

- Cochrane Database Syst. Rev.* 2017;8(8):CD008587. DOI: 10.1002/14651858.CD008587.pub2.
49. Pirtea L., Grigoraş D., Matusz P., Pirtea M., Moleriu L., Tudor A. et al. Age and HPV type as risk factors for HPV persistence after loop excision in patients with high grade cervical lesions: an observational study. *BMC Surg.* 2016;16(1):70. DOI: 10.1186/s12893-016-0185-7.
 50. Shipitsyna E., Zolotoverkhaya E., Kuevda D., Nasonova V., Romanyuk T., Khachatryan A. et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus types and cervical squamous intraepithelial lesions in women over 30 years of age in St. Petersburg, Russia. *Cancer Epidemiol.* 2011;35(2):160–164. DOI: 10.1016/j.canep.2010.08.010.
 51. Caixeta R.C.A., Ribeiro A.A., Segatti K.D., Saddi V.A., Alves R.R.F., Carneiro M.A.S. et al. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women. *Diagn. Cytopathol.* 2015;43(10):780–785. DOI: 10.1002/dc.23301.
 52. Feldstein O., Gali-Zamir H., Schejter E., Feinberg T., Yehuda-Shnaidman E., Bornstein J. et al. High-risk HPV testing vs liquid-based cytology for cervical cancer screening among 25- to 30-year-old women: A historical cohort study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2023;102(2):226–233. DOI: 10.1111/aogs.14482.
 53. Tai Y.J., Chen Y.Y., Hsu H.C., Chiang C.J., You S.L., Chen H.C. et al. Clinical management and risk reduction in women with low-grade squamous intraepithelial lesion cytology: A population-based cohort study. *PLoS One.* 2017;12(12):e0188203. DOI: 10.1371/journal.pone.0188203.
 54. Firnhaber C., Swarts A., Goeieman B., Rakhombe N., Mulongo M., Williamson A. et al. Cryotherapy Reduces Progression of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 1 in South African HIV-Infected Women: A Randomized, Controlled Trial. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2017;76(5):532–538. DOI: 10.1097/QAI.0000000000001539.
 55. St.-Martin G., Thamsborg L.H., Andersen B., Christensen J., Ejersbo D., Jochumsen K. et al. Management of low-grade cervical cytology in young women. Cohort study from Denmark. *Acta. Oncol.* 2021;60(4):444–451. DOI: 10.1080/0284186X.2020.1831061.
 56. Buick C., Jembere N., Wang L., Kupets R. Cervical screening and colposcopy management of women age 24 and under. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2020;42(12):1518–1524. DOI: 10.1016/j.jogc.2020.06.013.
 57. Min C.J., Massad L.S., Dick R., Powell M.A., Kuroki L.M. Assessing Physician Adherence to Guidelines for Cervical Cancer Screening and Management of Abnormal Screening Results. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 2020;24(4):337–342. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000558.

Информация об авторах

Чернов Денис Юрьевич – ординатор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, denis.chrnv1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1521-9668>

Тихоновская Ольга Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, tikhonovskaya2012@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4309-5831>

Логвинов Сергей Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, s_Logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

Петров Илья Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, obgynsib@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0697-3896>

Юрьев Сергей Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, sergeiyuriev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1343-5471>

Жданкина Анна Александровна – д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, annazhdank@yandex.ru., <https://orcid.org/0000-0002-4954-7416>

Герасимов Александр Владимирович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, av-gerasimov62@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

Зингалик Илья Викторович – ординатор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, zingaliyk_27_07@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-1508-2832>

Михеенко Галина Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, mchnk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3869-1906>

✉ **Чернов Денис Юрьевич**, denis.chrnv1@gmail.com

Поступила в редакцию 05.09.2023;
одобрена после рецензирования 15.09.2023;
принята к публикации 21.09.2023

А

Абакумова Т.В. 1
 Абдульянов И.В. 2
 Абзалова Г.Ф. 2
 Абрамов А.А. 1
 Абрамова М.П. 1
 Агаева С.А. 4
 Азаркина Л.А. 4
 Акинина А.И. 2
 Алиев О.И. 1
 Алифирова В.М. 2
 Алифоренко А.Е. 2
 Алферов А.А. 2
 Амелин А.В. 1
 Андреев С.Л. 4
 Андреева Л.А. 2
 Анисин А.В. 4
 Антонеева И.И. 1
 Архипов С.А. 4
 Архипова В.В. 4
 Арчаков Е.А. 3
 Асланова Р.Ш. 2
 Аутеншлюс А.И. 4
 Афанасьев С.А. 1, 3
 Ахмадеева Л.Р. 1
 Ахмедов Ш.Д. 2
 Аяганов Д.Н. 1

Б

Бала А.М. 4
 Баталов Р.Е. 3
 Батурин В.А. 3
 Баширов С.Р. 4
 Баширова А.С. 4
 Белик Е.В. 3
 Белоусов М.В. 4
 Березикова Е.Н. 2, 3
 Беспалова И.Д. 1, 3, 4
 Калюжина Е.В. 3
 Бикбавова Г.Р. 3
 Бобылева Е.Т. 3
 Бобынцев И.И. 2
 Богомолова И.А. 1
 Бойко А.С. 2
 Борисенко О.В. 2
 Брагина Е.Ю. 3

Брагина О.Д. 1, 3
 Бразовский К.С. 4
 Братишко К.А. 4
 Буйко Е.Е. 4
 Букреева Е.Б. 3
 Булычева И.В. 2
 Буреев А.Ш. 3
 Буслаев В.Ю. 1
 Бутолина М.А. 2
 Быков В.В. 1, 2
 Быков Ю.В. 3
 Быкова А.В. 1, 2

В

Валеева Э.С. 2
 Ванеева Е.В. 4
 Вараксин Н.А. 4
 Варакута Е.Ю. 4
 Варфоломеева С.Р. 2
 Васильев В.Н. 4
 Васильева Е.А. 4
 Вацик-Городецкая М.В. 2
 Венгеровский А.И. 1, 2
 Винокурова Д.А. 4
 Вишняк Д.А. 1
 Волошин Н.И. 4
 Ворвиль А.О. 2
 Вражнов Д.А. 2, 4
 Вторушин С.В. 2, 4

Г

Гаджиев А.А. 4
 Гайфулина Ж.Ф. 4
 Галкин С.А. 3
 Галочкин С.А. 4
 Гапонов А.М. 2
 Гараева Л.А. 2
 Гарбузова Е.В. 3, 4
 Гарбуков Е.Ю. 3
 Гарганеева Н.П. 1, 3
 Генинг Т.П. 1
 Герасимов А.В. 4
 Геращенко Т.С. 1
 Геренг Е.А. 4
 Герштейн Е.С. 2

Гильмиярова Ф.Н. 3
 Гладковская М.В. 4
 Годовалов А.П. 3
 Гольдберг А.В. 1
 Гольдберг В.Е. 3
 Гончарова А.А. 1
 Горбатовская Е.Е. 3
 Горбунов Н.С. 2
 Горелова Ю.В. 1
 Горячева И.О. 2
 Готовчиков А.А. 1
 Гракова Е.В. 1, 2, 3
 Гребенкина И.А. 2
 Григорьев П.Е. 2, 3
 Григорьева Т.В. 2
 Гридина М.М. 2
 Грищенко М.Ю. 3
 Груздева О.В. 3
 Губанов А.В. 2
 Гуляева О.Н. 3
 Гуражева А.А. 2
 Гуревич К.Г. 3
 Гусакова А.М. 2
 Гусякова О.А. 3

Д

Деев И.А. 1, 4
 Деев С.М. 3
 Денисова Д.В. 4
 Денисова О.А. 3
 Джумагалиева М.Б. 1
 Диане М.Л. 4
 Дмитриева М.Л. 4
 Долгова Д.Р. 1
 Дума О.М. 4
 Дунаева О.И. 1
 Дылева Ю.А. 3
 Дьяконов Д.А. 4

Е

Евсюков О.Ю. 1

Ж

Жданкина А.А. 4
 Жукова А.Г. 3

З

Завадовский К.В. 1
 Загрешенко Д.С. 2
 Зайцева А.Д. 3
 Зармаева М.Б. 1
 Захарьян Е.А. 2, 3
 Зельчан Р.В. 1
 Зима А.П. 4
 Зингалюк И.В. 4
 Змеева Ю.С. 2
 Зорина Н.А. 2
 Зыбина Н.Н. 2
 Зыкова М.В. 4

И

Иванов В.В. 1, 4
 Иванова А.А. 2
 Ильинский Н.С. 4
 Исаева Н.В. 2

К

Кабельо
 Монтойа Ф.Э. 1, 4
 Кавешников В.С. 2
 Казицкая А.С. 3
 Кайгородова Е.В. 2, 3
 Калининчук А.Ю. 1
 Калюжин В.В. 1, 2, 3, 4
 Калюжин О.В. 1
 Калюжина Е.В. 1, 3
 Камальдинова Д.Р. 2
 Капитанова Л.Э. 2
 Карбышев М.С. 2
 Кароли Н.А. 1
 Карпова М.Р. 3, 4
 Карташевская М.И. 3
 Карташевский И.И. 3
 Каспаров Э.В. 2
 Кашталап В.В. 3
 Каштанова Е.В. 3, 4
 Климов А.В. 2
 Климов В.В. 2
 Кобалава Ж.Д. 1, 2, 4
 Кобер К.В. 2

Кобякова О.С. 1, 4
 Ковалев И.В. 4
 Ковалев О.И. 2
 Ковалева О.В. 2
 Козмай Я.А. 3
 Койлыбаева А.М. 1
 Колганова Н.А. 1
 Колесникова И.М. 2
 Колобовникова Ю.В. .. 4
 Кологринова Е.Н. 2
 Кологринова И.В. 4
 Колотьева Н.А. 3
 Конев Р.А. 3
 Коненков В.И. 3
 Копнов И.С. 4
 Копьева К.В. 1, 2, 3
 Корепанов В.А. 1
 Корнетов А.Н. 1, 3
 Корнетова Е.Г. 1
 Королев М.А. 2
 Королева Е.С. 4
 Косарева П.В. 3
 Косимова З.О. 4
 Костелей Я.В. 3
 Котловский М.Ю. 4
 Кошкарлова Н.С. 2
 Кошовкина Т.В. 2
 Кошавцева Ю.И. 3, 4
 Краснов В.С. 1
 Крахмаль Н.В. 4
 Кривошеков С.В. 4
 Криницкий Д.В. 4
 Кручинина М.В. 2
 Кручинина Э.В. 2
 Крыльский Е.Д. 2
 Кузнецов И.Н. 2
 Кузьмин Ю.Б. 2
 Кузьмичкина М.А. 2
 Куликов Е.С. 2
 Кургузов А.В. 4
 Курочкина Ю.Д. 2
 Кустова М.В. 1
 Кушлинский Н.Е. 2
 Кушнер Я.Б. 1

Л

Лаптев В.В. 4
 Ларионов К.С. 4
 Ларионова А.В. 3
 Ласукова Т.В. 3

Левчук Е.В. 4
 Ледовских С.Р. 3, 4
 Летягина Е.А. 2
 Ливзан М.А. 3
 Лившиц И.К. 3
 Литвинова Л.С. 1
 Логвинов С.В. 4
 Ляхович В.В. 4

М

Магомедова К.Ш. 3
 Макаров В.В. 2
 Максимов В.Н. 2
 Малиновский В.А. 4
 Мальцева А.Н. 1
 Мальчук В.Н. 3
 Мацкова Л.В. 1
 Маянская С.Д. 2
 Медведева А.А. 1
 Медведева О.А. 2
 Меднова И.А. 1
 Мелконян К.И. 3
 Мельникова Е.С. 2
 Минаева Н.В. 2
 Минаков А.А. 4
 Минина В.И. 1
 Митриченко У.М. 3, 4
 Михайлова Е.С. 4
 Михалев Д.А. 4
 Михеенко Г.А. 3, 4
 Мишина Е.С. 2
 Мосиенко Е.С. 2
 Мотов В.С. 2
 Мочула А.В. 1
 Мурашов И.С. 4
 Муслимова Э.Ф. 3
 Мягдиева И.Р. 1
 Мясоедов Н.Ф. 2

Н

Назаров И.С. 4
 Назарова Е.Л. 4
 Найдина О.А. 2
 Наумов С.С. 4
 Наумова Л.А. 2
 Невская К.В. 4
 Немцова Е.Г. 2
 Нестерова А.А. 1
 Нестерович С.В. 2

Никулина Е.Л. 4
 Нихаев Л.Е. 2
 Новикова Н.В. 1
 Норкин И.К. 1

О

Огородова Л.М. 2
 Омельянчик А.С. 1

П

Павленко О.А. 1, 4
 Павловский В.И. 2
 Пеков С.И. 4
 Перельман Ю.М. 1
 Перельмутер В.М. 1
 Перина Е.А. 1
 Перминова И.В. 4
 Перфилова В.Н. 1
 Перчаткина О.Э. 1
 Першина Д.Е. 4
 Першина Н.Е. 2
 Песков А.Б. 1
 Петров В.А. 2
 Петров И.А. 3, 4
 Петрова И.В. 3, 4
 Петрова М.С. 4
 Пешковская А.Г. 3
 Пирогов А.Б. 1
 Пирогова Н.А. 1
 Плотников Д.М. 2
 Плотников Е.В. 4
 Подчиленова Д.В. 2
 Полонская Я.В. 3, 4
 Попов И.А. 4
 Попова В.О. 3
 Попова Т.Н. 2
 Поровский Я.В. 3
 Потапов А.В. 4
 Приходько А.Г. 1
 Прищеп П.Л. 2
 Прокофьев В.Ф. 3
 Прокофьев И.И. 1
 Проскура А.В. 4
 Проскура О.В. 1
 Протасюк Е.Н. 2
 Пугач В.А. 4

Р

Рабцевич Е.С. 4
 Рагино Ю.И. 3, 4
 Радковская М.С. 3
 Разуваев Г.А. 2
 Ребров А.П. 1
 Реброва Т.Ю. 1, 3
 Репина Е.С. 3
 Рогожин Д.В. 2
 Родионова В.В. 1
 Романов Д.С. 3, 4
 Росин В.А. 4
 Ростовцев С.И. 2
 Румянцев С.А. 2
 Русинова Т.В. 3
 Рыбина А.Н. 1
 Рязанцева У.В. 2

С

Савельева О.Е. 1
 Садовский Е.В. 3, 4
 Салухов В.В. 4
 Самарина С.В. 4
 Самгина Т.А. 4
 Самоделкин Е.И. 3
 Самойлова Ю.Г. 2, 4
 Санина А.Е. 4
 Саприна Т.В. 1, 4
 Сарпова М.В. 4
 Сафарова А.Ф. 1, 2
 Сафарова С.С. 1
 Светлик М.В. 4
 Светлова И.О. 2
 Селезнева И.И. 3
 Семакин А.В. 4
 Семашкова Е.А. 3
 Семке А.В. 1
 Серебрякова В.А. 4
 Серебрякова В.Н. 2
 Сивакова Л.В. 3
 Сидехменова А.В. 1
 Смирнов И.П. 4
 Сморгон А.В. 2
 Соколов А.Ю. 1
 Соколова Т.С. 3
 Солдатенко М.В. 1
 Солдатова О.В. 2
 Солонский А.В. 4
 Станкевич С.А. 1, 2

- Старовойтова Е.А. 4
 Стародумова В.А. 2
 Стахнёва Е.М. 3, 4
 Стилиди И.С. 2
 Сторожук С.В. 3
 Стреж В.А. 4
 Суханова С.А. 1
 Сушенцов Е.А. 2
- Т**
- Тарабрина А.А. 2
 Тараненко М.И. 4
 Тарасов М.Н. 4
 Тарасов Р.С. 3
 Таширева Л.А. 1
 Тепляков А.Т. 1, 2, 3
 Терентьева Н.Н. 1, 3
 Терещенко Н.М. 1
 Тетенева А.В. 3
 Тимофеева О.С. 4
 Тихоновская О.А. 3, 4
 Тихонравова Д.В. 3
 Толкачева В.В. 1, 4
 Толмачев В.М. 3
 Толмачев И.В. 2, 4
 Тотолян Н.А. 1
 Трегубова Е.В. 4
 Третьякова М.С. 4
- Трубачева О.А. 4
 Трунов А.Н. 3
 Тюнин М.А. 4
 Тюренков И.Н. 1
 Тюфилин Д.С. 1, 4
 Удут В.В. 1
 Удут Е.В. 4
- У**
- Уразова О.И. 2, 4
 Усов В.Ю. 1, 3, 4
 Утемов С.В. 2
 Уфандеев А.А. 4
 Учасова Е.Г. 3
- Ф**
- Федорец А.В. 2
 Федорова О.С. 1, 2, 3
 Федосенко С.В. 2, 4
 Фишман В.С. 2
- Х**
- Хазанов В.А. 1, 2
 Хазиахматова О.Г. 1
 Хлусов И.А. 1
- Хмелевская Е.С. 1
 Худякова А.Д. 3, 4
 Хуснутдинова Д.Р. 2
 Хуцишвили Н.И. 4
- Ц**
- Цепелев В.Л. 2
 Цыплина Е.Ю. 2
- Ч**
- Черемисина О.В. 1
 Чернов В.И. 1, 3
 Чернов Д.Ю. 4
 Черногорюк Г.Э. 1, 3
 Чернышова М.А. 4
 Черных В.В. 3
 Четверяков А.В. 2
 Чигрина В.П. 1, 4
 Чижевская С.Ю. 1
 Чойнзонов Е.Ц. 1
 Чумакова С.П. 4
 Чупрынин Г.П. 3
 Чэнь М. 4
- Шевченко А.В. 3
 Шевченко О.В. 1
 Шерстнев Ф.С. 2
 Шестопалов А.В. 2
 Шилов С.Н. 3
 Шипулин В.М. 4
 Шмырина А.А. 2
 Шнайдер О.Л. 4
 Шрамко В.С. 3, 4
- Щ**
- Шуплецова В.В. 1
 Щербакова Л.В. 3, 4
- Ю**
- Юдин С.М. 2
 Юлдашев В.Л. 1
 Юришич В. 2
 Юрова К.А. 1
 Юрьев С.Ю. 3, 4
- Я**
- Ядыкина Т.К. 3
 Якимович И.Ю. 4
 Янушевич О.О. 2



135 ЛЕТ СИБИРСКОМУ ГОСУДАРСТВЕННОМУ МЕДИЦИНСКОМУ УНИВЕРСИТЕТУ

ISSN PRINT: 1682-0363 ISSN ONLINE: 1819-3684 Бюллетень сибирской медицины Bulletin of Siberian Medicine bulletin ENG | РУС

Бюллетень сибирской медицины

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ О ЖУРНАЛЕ МОЙ КАБИНЕТ ПОИСК СВЕЖИЙ НОМЕР АРХИВ НОВОСТИ АРХИВ 2002-2011



Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общемецинского 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

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок реального характера

Том 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS

WoS Crossref Member

АНТИПЛАГИАТ

Academia.edu

АНРИ

CVBERLENIKA

DOAJ

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ БИБЛИОТЕКА LIBRARY.RU

EMERITUM SOURCES

Global F5

Google

3BC

NEICON

NLM Catalog

Open Archives

Research Bible

РГБ

Science Index

rnmj.ru

ROAD

Russian Science Citation Index

Scopus

ULRICH'S PERIODICALS DIRECTORY

WALTON

WorldCat

znanium.com