

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 23

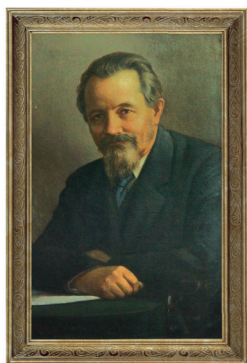
№ 4. 2024

Издательский дом Сибирского государственного медицинского университета представляет серию книг «Наследие ТОМСКОЙ МЕДИЦИНЫ»



А.И. Венгеровский, О.Е. Ваизова, Т.М. Плотникова

**АКАДЕМИК
НИКОЛАЙ ВАСИЛЬЕВИЧ
ВЕРШИНИН**



В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося фармаколога, академика АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР, лауреата Сталинской (Государственной) премии Николая Васильевича Вершинина (1867–1951).

Для врачей, студентов, ученых, всех интересующихся историей медицины.

В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося микробиолога, вирусолога и эпидемиолога, академика АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР Сергея Петровича Карпова (1903–1976).

Для врачей, студентов, ученых, всех интересующихся историей медицины.



**ВОСПОМИНАНИЯ
О ПРОФЕССОРЕ СУХОДОЛО**



Книга посвящена памяти доктора медицинских наук, профессора Владимира Демьяновича Суходоло (1919–2000), участника обороны Ленинграда, инвалида Великой Отечественной войны, работавшего в Сибирском государственном медицинском университете (СибГМУ, Томском медицинском институте) в 1948–2000 гг. С уважением, восхищением и любовью профессор В.Д. Суходоло вспоминают ученики, коллеги, друзья, члены семьи, родные.

Для тех, кто интересуется историей медицины, Сибирского государственного медицинского университета, Томска.



М.Р. Карпова, С.А. Некрылов

**АКАДЕМИК
СЕРГЕЙ ПЕТРОВИЧ
КАРПОВ**



БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 23, № 4, 2024

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 27.12.2024 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 5,5. Усл. печ. л. 5,0.
Тираж 500 экз. Заказ 501.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 28.12.2024.

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифирова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Л.И. Афтанас, *академик РАН (Новосибирск)*
А.А. Баранов, *академик РАН (Москва)*
А.И. Венгеровский, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Е.Г. Григорьев, *член-корреспондент РАН (Иркутск)*
А.М. Дыгай, *академик РАН (Томск)*
М.В. Завьялова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Л.В. Капилевич, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
С.И. Карась, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Р.С. Карпов, *академик РАН (Томск)*
В.И. Киселев, *член-корреспондент РАН (Барнаул)*
С.В. Логвинов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
А.Д. Макацария, *член-корреспондент РАН (Москва)*
Л.С. Намазова-Баранова, *академик РАН (Москва)*
С.А. Некрылов, *профессор, д-р ист. наук (Томск)*
В.П. Пузырев, *академик РАН (Томск)*
В.И. Стародубов, *академик РАН (Москва)*
Е.А. Степовая, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
А.Т. Тепляков, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
В.А. Ткачук, *академик РАН (Москва)*
О.С. Федорова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
И.А. Хлусов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Е.Л. Чойнзонов, *академик РАН (Томск)*
А.Г. Чучалин, *академик РАН (Москва)*
А.В. Шабров, *академик РАН (Санкт-Петербург)*
В.А. Шкурупий, *академик РАН (Новосибирск)*
М.С. Юсубов, *профессор, д-р хим. наук (Томск)*
A. Antsaklis, *профессор (Греция)*
F. Chervenak, *профессор (США)*
C. Dadak, *профессор (Австрия)*
Y. Dekhtyar, *профессор (Латвия)*
M. 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 23, No. 4, 2024

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

FOUNDER AND PUBLISHER:

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

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

The journal "Bulletin of Siberian Medicine"
is included in the list of peer-reviewed scientific journals
and publications issued in the Russian Federation,
which should publish main scientific results
of doctoral and Candidate of Sciences
theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed in:

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

RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Editorial Board Office:

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

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

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translators: M.E. Orlova, K.Yu. Skvortsova
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

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

Signed to print on 27.12.2024
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 5,5. C.p.s. 5,0.
500 copies. Order No. 501.

The price – free.
Date of publication 28.12.2024.

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

© Siberian State Medical University, 2024

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

Буйко Е.Е., Перина Е.А., Васильченко Д.В., Цыденова И.А.,
Хмелевская Е.С., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А.,
Иванов В.В., Вторушин С.В., Удут Е.В.

Динамические изменения целостности РНК, экспрессии
генов и патоморфология тканей экспериментальных мышей в
посмертном периоде

5

Галкин С.А., Корнетова Е.Г., Корнетов А.Н., Петкун Д.А.,
Бохан Н.А.

Особенности структурных и функциональных изменений
головного мозга у больных шизофренией

15

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И.,
Ким А.Э., Рогожина Л.С.

Трансформация нейтрофильных сетей под влиянием патогенов
и иммуноглобулинов класса G

22

Карпов А.А., Шиленко Л.А., Ваулина Д.Д., Сидорова Е.Е.,
Ахметова А.А., Буненков Н.С., Воротилов А.В., Ивкин Д.Ю.,
Карпенко В.В., Галагудза М.М.

Экспериментальная модель хронической тромбоэмболической
легочной гипертензии с применением микроинкапсулирован-
ных частиц фибрина

31

Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Толкачева В.В., Зоря О.Т.,
Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Лапшин А.А.,
Смирнов И.П., Хуцишвили Н.И., Галочкин С.А.,
Вацик-Городецкая М.В.

Оценка наличия и динамики легочного застоя по данным ульт-
развукового и дистанционного диэлектрического исследова-
ния (REDS) у пациентов, госпитализированных с декомпенса-
цией хронической сердечной недостаточности

38

Кукла М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А.,
Бердников А.К., Колотьева Н.А., Салмина А.Б.

Изменение экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток
эндотелия у экспериментальных животных с моделью болезни
Альцгеймера

47

Курносенко А.В., Рейнгарт Г.В., Полетика В.С.,
Колобовникова Ю.В., Чумакова С.П., Уразова О.И.,
Грищенко М.Ю., Чурина Е.Г., Гамирова К.А.

Фенотипический профиль моноцитов крови и опухоле-
ассоциированных макрофагов во взаимосвязи с экспрессией
галектинов 1 и 3 при раке толстой кишки

55

Малиновский В.А., Федосенко С.В., Семакин А.В.,
Диркс И.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л., Винокурова Д.А.,
Старовойтова Е.А., Агаева С.А., Нестерович С.В.,
Калюжин В.В.

Предикторы летального исхода у госпитализированных паци-
ентов с COVID-19

64

Меньшикова А.Н., Гордиенко А.В., Сотников А.В., Носович Д.В.
Предикторы легочной гипертензии в подостром периоде ин-
фаркта миокарда у мужчин молодого и среднего возраста

74

Милованова К.Г., Захарова А.Н., Орлова А.А.,
Коллантай О.В., Шувалов И.Ю., Попов С.А., Медведев М.А.,
Ковалев И.В., Якимович И.Ю., Чибалин А.В., Капилевич Л.В.

Эффекты принудительных беговых нагрузок на показатели
липидного и углеводного обмена у мышей с моделью сахар-
ного диабета типа 2

82

ORIGINAL ARTICLES

Buyko E.E., Perina E.A., Vasilchenko D.V., Tsydenova I.A.,
Khmelevskaya E.S., Ufandeev A.A., Kaidash O.A.,
Ivanov V.V., Vtorushin S.V., Udut E.V.

Dynamic changes in RNA integrity, gene expression,
and tissue pathomorphology of experimental mice in the
postmortem period

Galkin S.A., Kornetova E.G., Kornetov A.N., Petkun D.A.,
Bokhan N.A.

Features of structural and functional changes of the brain in
patients with schizophrenia

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I.,
Kim A.E., Rogozhina L.S.

Transformation of NETs under the effect of pathogens
and IgG

Karpov A.A., Shilenko L.A., Vaulina D.D., Sidorova E.E.,
Akhmetova A.A., Bunenkov N.S., Vorotilov A.V., Ivkin D.Yu.,
Karpenko V.V., Galagudza M.M.

A model of chronic thromboembolic pulmonary
hypertension with the use of microencapsulated fibrin
particles

Kobalava Zh.D., Safarova A.F., Tolkacheva V.V., Zorya O.T.,
Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Lapshin A.A.,
Smirnov I.P., Khutsishvili N.I., Galochkin S.A.,
Vatsik-Gorodetskaya M.V.

Assessing pulmonary congestion in patients hospitalized
with decompensated chronic heart failure according to
lung ultrasound and remote dielectric sensing (ReDS)

Kukla M.V., Averchuk A.S., Stavrovskaya A.V., Rozanova N.A.,
Berdnikov A.K., Kolotyeva N.A., Salmima A.B.

Changes in VEGFR1 and VEGFR2 expression and
endothelial cell maturity in laboratory animals with a
model of Alzheimer's disease

Kurnosenko A.V., Reingardt G.V., Poletika V.S.,
Kolobovnikova Yu.V., Chumakova S.P., Urazova O.I.,
Grishchenko M.Yu., Churina E.G., Gamirova K.A.

Phenotypic profile of blood monocytes and tumor-
associated macrophages in relation to the expression of
galectins 1 and 3 in colorectal cancer

Malinovskiy V.A., Fedosenko S.V., Semakin A.V.,
Dirks I.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Vinokurova D.A.,
Starovoitova E.A., Agaeva S.A., Nesterovich S.V.,
Kalyuzhin V.V.

Predictors of mortality in hospitalized patients with
COVID-19

Menshikova A.N., Gordienko A.V., Sotnikov A.V., Nosovich D.V.
Predictors of pulmonary hypertension in the subacute period
of myocardial infarction in young and middle-aged males

Milovanova K.G., Zakharova A.N., Orlova A.A.,
Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Popov S.A., Medvedev M.A.,
Kovalev I.V., Yakimovich I.Yu., Chibalin A.V., Kapilevich L.V.

Effects of forced treadmill exercise on lipid and
carbohydrate metabolism parameters in a mouse model of
type 2 diabetes mellitus

Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Индутный А.В., Мордык А.В.,
Кириченко Н.А., Романова М.А., Птухин А.О.

Характеристика продукции нейтрофильных внеклеточных
ловушек и концентрации цитруллинированного гистона H3
у детей, больных туберкулезом

Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н., Счастный Е.Д.

Нарушения сна у больных ишемической болезнью сердца
в сочетании с депрессивными расстройствами

Перина Е.А., Буйко Е.Е., Каминский И.П., Собакин Д.С.,
Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Удут Е.В.

Новый подход к оценке эффективности антигельминтных
средств *in vitro*

Плешкова Е.К., Резанова З.И.

Влияние противоэпидемических (карантинных) мероприятий
в условиях пандемии COVID-19 на население: выявление
ключевых тематик с помощью социально-сетевого анализа

Сажинбаев У.Р., Ахмедов Т.А., Рукавишников С.А.,
Давыдова Е.П.

Анализ уровня и динамики заболеваемости (по обращаемо-
сти) возраст-ассоциированной патологией в 2018–2022 гг. (на
примере муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга)

Тимкин П.Д., Котельников Д.Д., Тимофеев Э.А., Наумов Д.Е.,
Бородин Е.А.

Исследование молекулярных взаимодействий синтетических
глюкокортикоидов с trpm8 методом молекулярного докинга

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Барсук И.А., Головки К.П., Александров В.Н., Хасанов А.Р.,
Эдгеев Н.И., Галиуллин Р.И.

Использование трехмерной биопечати для регенерации кожи и
заживления ран (обзор литературы)

Головинов И.В., Гончарова А.С., Шульга А.А., Власов С.Н.,
Димитриади С.Н.

Клинические исследования онколитических вирусов

Михалев Д.Е., Коротенко С.Н., Ломовских А.Ю., Байдик О.Д.

Ангиогенин: биологическая роль, механизмы действия и уча-
стие в онкогенезе

Останко В.Л., Калачева Т.П., Кулумаева К.А., Ли Н.А.,
Белобородова Е.В., Пурлик И.Л., Калюжина Е.В.,
Бразовская Н.Г., Калюжин В.В.

Маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта

Погонченкова Д.А., Четверня Л.В., Васильева О.А.,
Кононова Т.Е., Полетика В.С., Абрамов В.К.,
Чумакова С.П., Елисеева Л.В., Уразова О.И.

Роль медиаторов в формировании ведущих патологических
процессов при псориатическом артрите

Соколова Т.С., Мальчук В.Н., Ногай А.А., Федорова О.С.,
Огородова Л.М.

Значение биоразнообразия микробиоты человека и окружаю-
щей среды в подверженности развитию бронхиальной астмы
у детей

Именной указатель 23-го тома

Novikov D.G., Zolotov A.N., Indutny A.V., Mordyk A.V.,
Kirichenko N.A., Romanova M.A., Ptukhin A.O.

NETs production and citrullinated histone H3 level in
children with tuberculosis

Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N., Schastnyy E.D.

Sleep disturbances in patients with comorbid coronary
heart disease and depression

Perina E.A., Buyko E.E., Kaminskiy I.P., Sobakin D.S.,
Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Udut E.V.

A new approach to assessing the efficacy of anthelmintic
agents *in vitro*

Pleshkova E.K., Rezanova Z.I.

Effects of anti-epidemic (quarantine) measures on people
during the COVID-19 pandemic: applying social network
analysis to identify the key topics

Saginbaev U.R., Akhmedov T.A., Rukavishnikova S.A.,
Davydova E.P.

Analysis of the rate and changes in the incidence of age-
related diseases (by medical care uptake) in 2018–2022
(through the example of a municipal hospital in Saint
Petersburg)

Timkin P.D., Kotelnikov D.D., Timofeev E.A., Naumov D.E.,
Borodin E.A.

Studying molecular interactions of synthetic
glucocorticoids with TRPM8 by molecular docking

REVIEWS AND LECTURES

Barsuk I.A., Golovko K.P., Alexandrov V.N., Khasanov A.R.,
Edgeev N.I., Galiullin R.I.

The use of three-dimensional bioprinting for skin
regeneration and wound healing (literature review)

Golovinov I.V., Goncharova A.S., Shulga A.A., Vlasov S.N.,
Dimitriadi S.N.

Clinical trials on oncolytic viruses

Mikhalev D.E., Korotenko S.N., Lomovskikh A.Yu., Baydik O.D.

Angiogenin: biological role, mechanisms of action, and
participation in oncogenesis

Ostanko V.L., Kalacheva T.P., Kulumaeva K.A., Li N.A.,
Beloborodova E.V., Purlik I.L., Kalyuzhina E.V.,
Brazovskaya N.G., Kalyuzhin V.V.

Markers of gastrointestinal diseases

Pogonchenkova D.A., Chetvernaya L.V., Vasilyeva O.A.,
Kononova T.E., Poletika V.S., Abramov V.K.,
Chumakova S.P., Eliseeva L.V., Urazova O.I.

The role of mediators in the formation of leading
pathological processes in psoriatic arthritis

Sokolova T.S., Malchuk V.N., Nogai A.A., Fedorova O.S.,
Ogorodova L.M.

The importance of biodiversity of human microbiota and
environment in the susceptibility to the development of
bronchial asthma in children

Author index for volume 23

УДК 577.21:616-018]-092.9-091.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-5-14>

Динамические изменения целостности РНК, экспрессии генов и патоморфология тканей экспериментальных мышей в посмертном периоде

Буйко Е.Е., Перина Е.А., Васильченко Д.В., Цыденова И.А., Хмелевская Е.С.,
Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Вторушин С.В., Удуд Е.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение закономерности морфологических изменений, величины целостности РНК и паттернов экспрессии генов тканей мышей, отобранных при аутопсии в контролируемых условиях.

Материалы и методы. Мышей линии Balb/c подвергали эвтаназии с последующей некропсией через 0, 3, 12, 24, 48, 72 ч. Первые 3 ч после эвтаназии мыши находились при комнатной температуре, а затем были перемещены в холодильник (4 °С). Общую РНК выделяли из образцов тканей почек, печени, головного мозга, целостность образцов РНК измеряли при помощи капиллярного электрофореза с расчетом значений RQN (RNA Quality Number). Уровень экспрессии генов домашнего хозяйства Actb, Eps1, Rps18 оценивали при помощи обратнo-транскриптной количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RT-qPCR) с оригинальными праймерами и зондами по технологии TaqMan. Гистологическое исследование выполнено по стандартной методике.

Результаты. Выделенная из тканей почек мышей РНК подвержена деградации в большей степени с увеличением посмертного интервала, чем РНК печени. При этом обнаружена отрицательная линейная зависимость между показателем RQN и длительностью посмертного интервала для образцов печени и почек животных. В то же время образцы РНК головного мозга не демонстрировали существенного изменения показателя RQN во всех временных точках. В тканях почек и печени мышей значительно снижается экспрессия генов *Eps1* и *Rps18*. Однако величина экспрессии генов *Eps1* и *Rps18* в головном мозге животных остается стабильной во всех временных точках и не демонстрирует значительного снижения через 72 ч после проведения эвтаназии. При гистологическом исследовании не обнаружено явных морфологических изменений, что не исключает наличия ультраструктурных патологических изменений.

Заключение. Величина целостности РНК (RQN) в аутопсийных тканях является важным предиктором качества образца для молекулярно-биологических исследований, включая анализ экспрессии генов.

Ключевые слова: посмертный интервал, аутопсия, целостность РНК, ПЦР, экспрессия генов

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23-69-10035 «Новые подходы валидации результатов молекулярного профилирования патологических изменений тканей на основе данных молекулярного профилирования, полученных при исследовании биопсии и аутопсии».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией IACUC СибГМУ (заключение № 1 от 05.06.2023).

Для цитирования: Буйко Е.Е., Перина Е.А., Васильченко Д.В., Цыденова И.А., Хмелевская Е.С., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Вторушин С.В., Удуд Е.В. Динамические изменения целостности РНК,

Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period

Buyko E.E., Perina E.A., Vasilchenko D.V., Tsydenova I.A., Khmelevskaya E.S., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Vtorushin S.V., Udut E.V.

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

ABSTRACT

Aim. To examine the pattern of morphological changes, RNA quality number, and gene expression in mouse tissues sampled at autopsy under controlled experimental conditions.

Materials and methods. Balb/c mice were euthanized and subsequently subjected to necropsy at 0, 3, 12, 24, 48, and 72 hours of the postmortem period. During the first three hours following euthanasia, the mice were maintained at room temperature, after which they were transferred to a refrigerator (4 °C). Total RNA was extracted from tissue samples taken from the kidney, liver, and brain; the integrity of the RNA samples was assessed by capillary electrophoresis, and the RNA quality number (RQN) was calculated. The expression levels of *Actb*, *Epas1*, and *Rps18* housekeeping genes were evaluated by real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) with original primers and probes using the TaqMan assay. The histologic examination was performed according to standard techniques.

Results. Degradation of RNA extracted from mouse kidney tissues appeared to be greater than that of RNA taken from the liver. In the meantime, a negative linear correlation was observed between RQN and the duration of the postmortem interval for liver and kidney samples. In contrast, no significant changes in the RQN score were observed for brain RNA samples at any of the time points. The expression of the *Epas1* and *Rps18* genes was significantly decreased in mouse kidney and liver tissues. However, the level of *Epas1* and *Rps18* gene expression in the brain remained stable at all time points and did not exhibit a significant decrease at 72 hours after euthanasia. No obvious morphological changes were detected by the histologic examination, which does not exclude the presence of ultrastructural pathological changes.

Conclusion. RQN in autopsy tissues serves as a crucial predictor of sample quality for molecular biology studies, including gene expression analysis.

Keywords: postmortem interval, autopsy, RNA integrity, PCR, gene expression

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation project No. 23-69-10035 “New approaches to validating the results of molecular profiling of pathological tissue changes based on molecular profiling data obtained from biopsy and autopsy studies”.

For citation: Buyko E.E., Perina E.A., Vasilchenko D.V., Tsydenova I.A., Khmelevskaya E.S., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Vtorushin S.V., Udut E.V. Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):5–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-5-14>.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования посмертных тканей имеют основополагающее значение для судебной медицины и биологических исследований при изучении этиологии и

патогенеза многих заболеваний [1, 2], в особенности в области онкологии [3]. Биологические материалы, полученные в процессе аутопсии пациентов с онкологическими заболеваниями, представляют большой интерес в исследовательской работе, поскольку обе-

спечивают проведение адекватной оценки качества клинической диагностики и разработку оптимизированных терапевтических стратегий [4].

Основным подходом к идентификации патологических изменений, происходящих в организме на уровне тканей, является морфологическое исследование, представляющее собой интерпретацию структуры ткани по результатам микроскопического анализа, в том числе с использованием методов иммуногистохимии. В то же время внедрение в практику передовых методов оценки экспрессии белка и проведение трансляционных мультиомных исследований позволяют сформировать максимально комплексное понимание патогенетических процессов онкологических заболеваний, связанных с изменением молекулярного, метаболического и генетического ландшафтов [5].

Однако использование посмертных тканей неизменно подразумевает временную задержку, поскольку образцы не могут быть немедленно сохранены в условиях, которые предотвращают деградацию биологических молекул. Процессы аутолиза клеток и деградации тканей ставят под угрозу надежность данных об экспрессии генов и результаты мультиомных исследований [2].

Таким образом, временной интервал между смертью и сбором образцов является важным фактором точности и достоверности данных молекулярно-биологических исследований, и посмертная деградация РНК может рассматриваться в качестве одного из маркеров сохранности аутопсийной ткани [2].

Традиционно целостность РНК оценивалась качественно путем сравнения интенсивности полос 28S и 18S рибосомальной РНК (рРНК) при проведении электрофореза в агарозном геле. Относительно недавно были разработаны автоматизированные электрофоретические системы на основе микрофлюидных технологий, способные проводить количественную оценку качества РНК на основе анализа оцифрованных электрофореграмм [6]. Действительно, молекулы РНК в клетках крайне уязвимы к деградации, и измерение величины целостности РНК (RNA Quality Number, RQN) является стандартным методом оценки деградации РНК [7].

Представленные в литературе данные о влиянии целостности РНК на достоверность и надежность результатов молекулярно-биологических исследований аутопсийных тканей противоречивы [8–10]. В нескольких работах предприняты попытки исследования взаимосвязи сохранности РНК аутопсийной ткани мозга человека и результатов оценки экспрессии генов [11] или транскриптомного профилирования [7].

Однако существенным ограничением дизайна представленных исследований является отсутствие оценки влияния таких факторов, как величина посмертного интервала и стандартизация процедуры пробоподготовки образцов тканей. Поэтому важное практическое значение имеет исследование влияния этих факторов на динамические изменения целостности РНК в строго контролируемых условиях, что может быть обеспечено только с использованием животных моделей.

Целью настоящего исследования является изучение закономерности морфологических изменений, величины целостности РНК и паттернов экспрессии генов тканей мышей, отобранных при аутопсии в контролируемых условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 30 самках мышей линии Balb/c (возраст к началу исследования 7 нед), полученных из SPF-вивария ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Использование животных в рамках настоящего исследования одобрено комиссией IACUC СибГМУ (заключение № 1 от 05.06.2023).

Животные всех групп были подвергнуты эвтаназии методом цервикальной дислокации после наркотизации газовым средством «Форан» (Aesica Queenborough Ltd., Великобритания).

Животные первой группы были подвергнуты некропсии непосредственно после проведения эвтаназии в качестве контроля ($n = 5$). Животных остальных экспериментальных групп вскрывали через 3, 12, 24, 48, 72 ч после эвтаназии ($n = 5$ для всех групп). При этом первые 3 ч после эвтаназии мыши находились при комнатной температуре, а затем были перемещены в холодильник (4 °C). Таким образом, были воссозданы условия, максимально приближенные к рутинному протоколу вскрытия пациентов, умерших в специализированных лечебных учреждениях [4].

Общую РНК выделяли из образцов тканей с помощью набора HiPure Total RNA Kit Magen (Guangzhou Magen Biotechnology, Китай) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и качество выделенной РНК оценивали путем измерения оптической плотности при 260 и 280 нм при помощи Nanodrop 2000 UV-VIS (Thermo Scientific, США). Целостность образцов РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе Bio-Fragment Analyzer (Bioptic Inc., Китай).

Выделенная РНК была использована для синтеза кДНК с использованием набора обратной транскриптазы MMLV (ЗАО «Евроген», Россия) согласно инструкции производителя. Праймеры и зонды (FAM-BHQ1) были подобраны с использованием

программы Vector NTI Advance 11.5, Oligo 7,5 и базы данных NCBI (Nucleotide Database) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>). Уровень экспрессии генов *Epas1* (*Endothelial PAS Domain Protein 1*) и *Rps18* (*Ribosomal Protein S18*) оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Австралия) (с оригинальными праймерами и зондами (*ACTB*: *F* 5' TGGCAACGAGCGGTTC 3'; *R* 5' CATAGAGGTCTTTACGGATGTCA 3'; *Probe* FAM-5'-TGGCAACGAGCGGTTC-3'- BHQ1; ампликон 134 п.о.; *EPAS1*: *F* 5' ATGTGTGAGCCAATCCAGC 3'; *R* 5' TCCAAGATTCTGTCGTCACAG 3'; *Probe* FAM-5'-ATGTGTGAGCCAATCCAGC-3'- BHQ1; ампликон 116 п.о.; *Rps18*: *F* 5' CCGCCATGTCTCTAGTGATC 3'; *R* 5' GTGATGGCGAAGGCTATTT 3'; *Probe* FAM-5'- CCGCCATGTCTCTAGTGATC-3'- BHQ1; ампликон 97 п.о.). Полимеразная цепная реакция ставилась в трех репликах в объеме 15 мкл, содержащем 250 мкМ dNTPs (Sibenzyme, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров, 200 нМ зонда, 2,5 мМ MgCl₂, 19 SE buffer (67 мМ Tris-HCl pH 8,8 при 25 °C, 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01%-й Tween-20), 2,5 ед HotStart Taq polymerase (Sibenzyme, Россия) и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94 °C, 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1-й шаг 94 °C, 10 с, и 2-й шаг 20 с – при температуре 60 °C. В качестве гена-рефери использован *Actb* (*actin beta*). Относительная экспрессия генов была оценена с помощью метода Pfaffl [12] и выражалась в условных единицах (усл. ед.). В качестве значений калибратора использовались усредненные значения, полученные из образцов РНК, выделенной из тканей мышей сразу после эвтаназии.

Для проведения гистологического исследования образцы тканей мышей были помещены в 10%-й рН-нейтральный раствор формалина с последующей фиксацией материала в течение 24 ч. Гистологическая проводка материала осуществлялась по стандартной методике в автоматическом гистопроцессоре ASP 6025 (Leica Microsystems, Германия) с изготовлением парафиновых блоков. Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм получали с парафиновых блоков при помощи санного микротомы HM 430 (Thermo Fisher Scientific, Германия). Окрашивание микропрепаратов проводилось готовым раствором гематоксилина и эозина в аппарате Varistain™ Gemini (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Морфологическое исследование и фотографирование гистологических микропрепаратов образцов проводили с использованием прямого микроскопа

Eclipse Ni (Nikon, Япония) и цифровой камеры Nikon (Япония) с программой компьютерного анализа изображений NIS-Elements D 5.20.00 (Nikon, Япония). Морфологическое исследование включало оценку изменений в органах и тканях на предмет явлений аутолиза.

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Все результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Проверку на нормальность распределения значений проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для проверки значимости различий между исследуемыми группами использовали дисперсионный анализ с поправкой на множественное сравнение Бенджамини – Хохберга. Взаимосвязь между признаками оценивали при помощи коэффициента корреляции Пирсона. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящем исследовании была проведена оценка качества РНК, выделенной из почек, печени и головного мозга мышей в условиях, близких к тем, которые используются при аутопсии человека, а в качестве индикатора целостности РНК был использован показатель RQN (RNA Quality Number).

Установлено, что в тканях почек, печени и головного мозга мышей, отобранных непосредственно после проведения эвтаназии, величины RQN составляли $8,86 \pm 0,49$; $8,48 \pm 0,44$ и $8,36 \pm 0,61$ соответственно (рис. 1 а, с, е). При расчете величины RQN учитываются доли площадей пиков 18S и 28S на электрофореграмме по сравнению с общей площадью под кривой, долю крупных молекул по сравнению с мелкими и высоту пиков 18S и 28S, что позволяет получить исчерпывающую информацию о степени деградации молекул РНК [13]. Значения RQN располагаются в диапазоне от 1 до 10, где 10 соответствует максимальной целостности выделенной РНК. Полученные результаты указывают на высокую сохранность молекул РНК в отобранных образцах и согласуются с данными литературы [14].

Хранение мышей после эвтаназии при комнатной температуре в течение 3 ч не приводило к снижению величины целостности РНК во всех исследуемых органах (см. рис. 1, а, с, е). Целостность РНК, выделенной из почек мышей после дальнейшего хранения при температуре 4 °C в течение 12 ч, снижалась на 34,9% ($p < 0,0001$), печени – на 15,8% ($p = 0,0443$) (см. рис. 1, а, с). Дальнейшее увеличение посмертного интервала до 24, 48 и 72 ч при 4 °C

сопровождалось последовательным снижением величин целостности РНК для тканей обоих органов, значения RQN для которых в конечной точке составляли $4,00 \pm 0,86$ и $4,81 \pm 0,35$ соответственно.

Таким образом, выделенная из тканей почек мышей РНК была в большей степени подвержена деградации с увеличением сроков посмертного интервала. В то же время образцы РНК головного мозга не

демонстрировали существенного изменения показателя RQN во всех временных точках (см. рис. 1, e). Важно отметить, что величина отношения 260/280, характеризующая чистоту выделенной тотальной РНК, для всех образцов РНК находилась в диапазоне от 2,0 до 2,3 и не наблюдалось существенных изменений этого показателя сразу после эвтаназии животных и в разные сроки посмертного интервала.

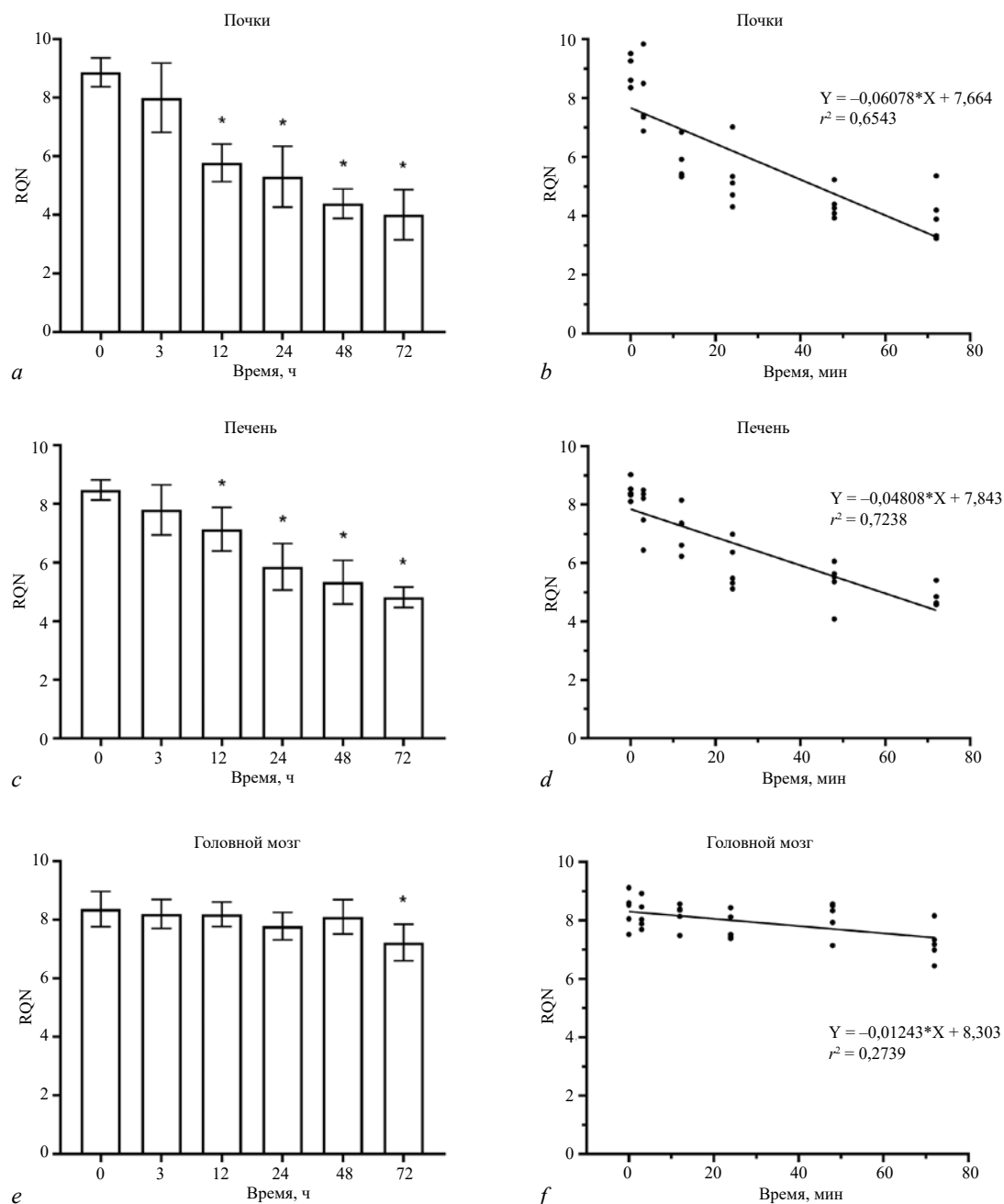


Рис. 1. Величина показателя целостности РНК RQN (RNA Quality Number) и ее зависимость от времени после эвтаназии в почках (a, b), печени (c, d) и головном мозге (e, f) мышей. Здесь и на рис. 2, 3 первые 3 ч после эвтаназии трупы мышей находились при комнатной температуре, затем были перемещены в холодильник (4 °C). Количество животных в каждой группе – 5. * различия статистически значимы ($p < 0,05$) с группой животных, подвергнутых некропсии сразу после эвтаназии (0 ч)

Обнаружена отрицательная линейная зависимость между показателем RQN и длительностью посмертного интервала для образцов печени и почек животных (см. рис. 1, *b, d*). В то же время такая зависимость для тканей головного мозга мышей не продемонстрирована (см. рис. 1, *f*). Полученные результаты свидетельствуют о том, что степень деградации РНК зависит от типа ткани и величины посмертного интервала.

Известно, что целостность молекул РНК имеет важное значение при проведении экспериментов, направленных на оценку экспрессии генов [14]. Для оценки взаимосвязи сохранности РНК аутопсийной ткани мышей и результатов молекулярно-биологических исследований в отобранных образцах почек, печени и головного мозга методом РТ-ПЦР оценивалась экспрессия генов домашнего хозяйства – *Actb*, *Epas1* и *Rps18*. В качестве референтного гена был выбран *Actb* вследствие его высокой стабильности в посмертно отобранных тканях [15].

В результате проведенных экспериментов установлено, что в тканях почек мышей после хранения эвтаназированных животных в течение 12 ч (3 ч при комнатной температуре и 9 ч при 4 °С) значительно снижается экспрессия гена *Epas1*: с $1,5 \pm 0,4$ до $0,9 \pm 0,3$ усл. ед. ($p = 0,0167$). В печени экспрессия этого гена снижается только через 48 ч после эвтаназии ($1,4 \pm 0,4$ усл. ед. через 3 ч и $0,7 \pm 0,2$ усл. ед. через 48 ч соответственно, $p = 0,0141$). Увеличение времени посмертного интервала приводило к дальнейшему снижению уровня экспрессии гена *Epas1* в почках и печени (рис. 2, *a, c*).

Интересно, что ткани почек и печени демонстрируют незначительное увеличение экспрессии гена *Rps18* через 12 ч после эвтаназии мышей (на 15,4% в почках и на 30,0% в печени в сравнении с аутопсийным материалом, отобранным через 3 ч) (см. рис. 2, *b, d*). В дальнейшем экспрессия этого гена снижается и через 72 ч хранения тканей составляет в почках $0,6 \pm 0,1$ усл. ед. (через 3 ч $1,3 \pm 0,3$ усл. ед., $p = 0,0012$) и в печени $0,5 \pm 0,2$ усл. ед. (через 3 ч $1,0 \pm 0,3$ усл. ед., $p = 0,0454$).

В то же время величина экспрессии генов *Epas1* и *Rps18* в головном мозге животных остается стабильной во всех временных точках и не демонстрирует значительного снижения через 72 ч после проведения эвтаназии (см. рис. 1, *e, f*).

Таким образом, показанные динамические изменения паттернов экспрессии генов мышей согласуются с приведенными выше результатами оценки целостности РНК и зависят от исследуемого органа и длительности посмертного интервала.

Для характеристики посмертных изменений в образцах аутопсийного материала (почек, печени и головного мозга) мышей было проведено патоморфологическое и гистологическое исследование (рис. 3).

В образцах тканей, полученных от экспериментальных животных в различных временных точках (0, 3, 12, 24, 48 и 72 ч после эвтаназии мышей), гистоархитектоника органов была сохранена. В почках на всех сроках эксперимента корковое и мозговое вещество дифференцировалось отчетливо, каналы почек были без особенностей, явлений аутолиза на светооптическом уровне обнаружено не было. При исследовании образцов печени гистоструктура органа также была сохранена, в части препаратов имелись липидные включения в цитоплазме гепатоцитов и явления зернистой дистрофии. Явлений аутолиза во всех исследованных образцах не обнаружено. В головном мозге отмечался слабо выраженный перичеселлюлярный отек, макро- и микроглия были сохранены, явлений аутолиза во всех исследованных образцах не обнаружено (см. рис. 3).

Таким образом, на микроскопическом уровне не было обнаружено явных морфологических изменений, таких как аутолиз и дегенеративные процессы, что не исключает наличия ультраструктурных патологических изменений [16].

ОБСУЖДЕНИЕ

Целостность молекул РНК имеет первостепенное значение при проведении экспериментов, направленных на оценку экспрессии генов выделенной РНК, особенно при проведении современных высокотехнологичных исследований с использованием микрочипов и мультиомиксных технологий [13, 17]. Действительно, одной из основных проблем, возникающих при работе с аутопсийными тканями, является выраженная разнородность образцов, поскольку факторы, определяющие молекулярные параметры, до и после смерти невозможно полностью контролировать [18, 19].

Понимание взаимосвязи изменений, наступающих в разные сроки посмертного интервала при работе с аутопсийными образцами, с качеством образцов и корректностью интерпретации результатов молекулярно-биологических исследований, включая целостность РНК и профиль экспрессии генов, имеет большое значение [20].

Поэтому в настоящем исследовании было проведено изучение закономерности морфологических изменений, величины целостности РНК и паттернов экспрессии генов тканей мышей, отобранных при аутопсии в контролируемых условиях.

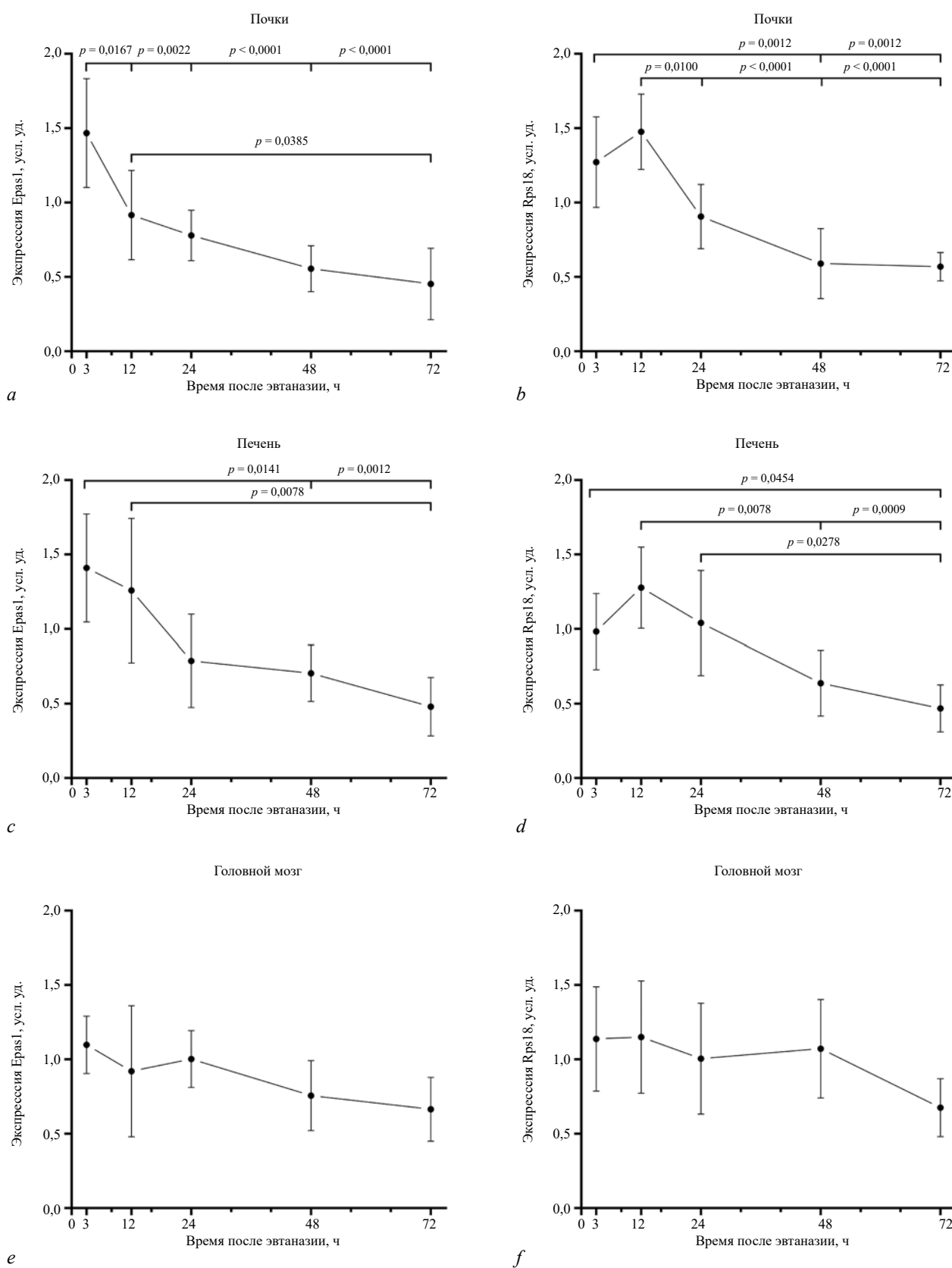


Рис. 2. Экспрессия генов *Epas1* и *Rps18* в почках, печени и головном мозге мышей в разные сроки после эвтаназии, оцененная относительно гена-рефери *Actb* (*actin beta*)

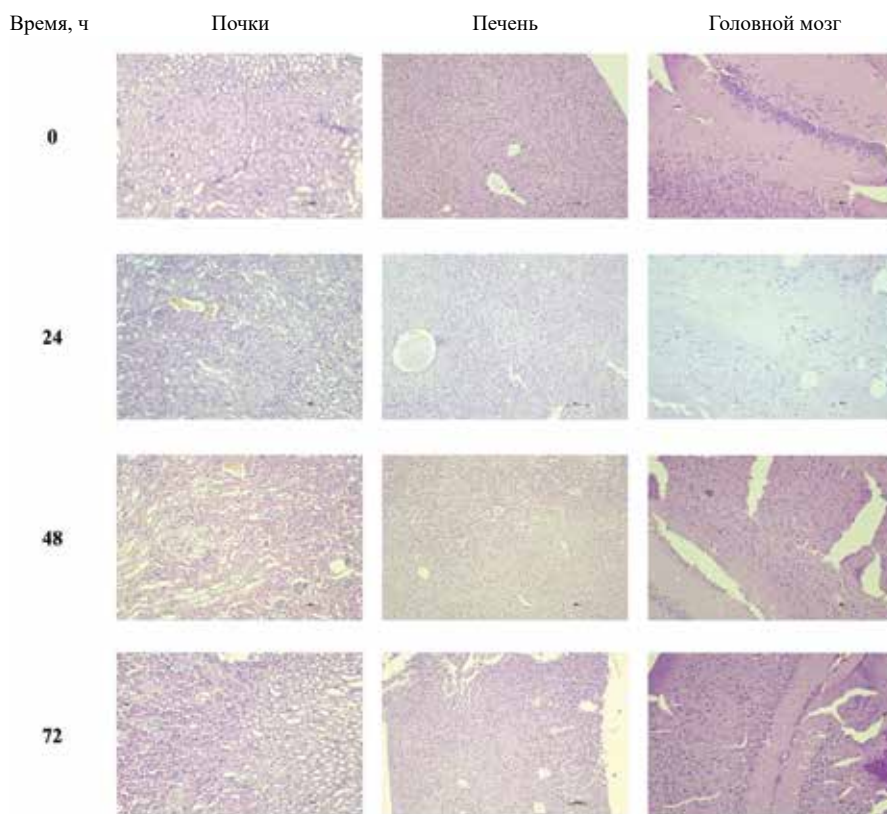


Рис. 3. Микроскопическая картина почек, печени и головного мозга мышей в разные сроки после эвтаназии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$

Проведение анализа показало наличие тканеспецифичности потери целостности РНК в различные сроки посмертного интервала. При этом почки и печень демонстрируют отрицательную зависимость показателя целостности РНК (RQN) с увеличением времени перед забором образцов. Напротив, образцы тканей головного мозга в гораздо меньшей степени подвержены посмертным изменениям, выражающимся в снижении показателя RQN. Подобные результаты были получены ранее в экспериментах по изучению влияния посмертного интервала на качество изолированной тотальной РНК мозга мышей Balb/c [21].

Оценка целостности РНК имеет важное значение для получения надежных результатов об уровне экспрессии генов [22]. Значения числа целостности РНК располагаются в диапазоне от 1 до 10 [13], где значения RQN выше 8,0 указывают на высокую целостность образцов РНК, от 5,0 до 8,0 – на умеренно деградированные образцы, а ниже 5,0 – на наличие значительной деградации [23]. RQN, равный 5, часто используется в качестве критерия для включения биологических образцов в исследование, хотя в литературных источниках отсутствует консенсус на этот счет [23].

Ткани почек и печени мышей в конечной точке наблюдения (72 ч после проведения эвтаназии) продемонстрировали снижение значений RQN более чем на 50% до $4,0 \pm 0,86$ и $4,81 \pm 0,35$ соответственно, что согласуется со значительным уменьшением количества мРНК стабильно экспрессируемых генов *Eras1* и *Rps18*. Действительно, в отдельных работах показано, что целостность рибосомальной РНК, выражаемая в RQN, может использоваться как альтернативный показатель качества информационной РНК (мРНК) [9, 22].

В то же время результаты гистологического исследования с использованием рутинной окраски не отражают динамические процессы деградации тканей в посмертном периоде на молекулярном уровне. Для выявления закономерностей развития ультраструктурных изменений требуются исследования с применением методов электронной микроскопии [16].

Таким образом, величина целостности РНК (RQN) в аутопсийных тканях является важным предиктором качества образца для молекулярно-биологических исследований, включая анализ экспрессии генов. Проведение дальнейших исследований позволит выявить закономерности, описывающие взаимосвязь молекулярных профилей тканей, полу-

ченных от трупов и биопсийного материала, и стандартизировать протоколы обращения с аутопсийным материалом для получения информативных результатов в мультиомиксных исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что деградация РНК в динамике посмертного периода протекает тканеспецифично и в наибольшей степени выражена в почках и печени экспериментальных животных, в отличие головного мозга. В тканях почек и печени мышей значительно снижается экспрессия стабильно экспрессируемых генов *Epas1* и *Rps18*. Величина экспрессии генов *Epas1* и *Rps18* в головном мозге животных остается стабильной во всех временных точках и не демонстрирует значительного снижения через 72 ч после проведения эвтаназии.

Обнаруженные динамические изменения паттернов экспрессии генов мышей согласуются с результатами оценки целостности РНК и зависят от исследуемого органа и длительности посмертного интервала. Таким образом, величина целостности РНК (RQN) в аутопсийных тканях является важным предиктором качества образца для молекулярно-биологических исследований, включая анализ экспрессии генов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mackenzie I.R., Neumann M. Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies. *Journal of Neurochemistry*. 2016;38:54–70. DOI: 10.1111/jnc.13588.
2. Zhu Y., Wang L., Yin Y., Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. *Scientific Reports*. 2017;7(1):5435. DOI: 10.1038/s41598-017-05882-0.
3. Strand C., Enell J., Hedenfalk I., Fernö M. RNA quality in frozen breast cancer samples and the influence on gene expression analysis – a comparison of three evaluation methods using microcapillary electrophoresis traces. *BMC Molecular Biology*. 2007;8:1–9. DOI: 10.1186/1471-2199-8-38.
4. Kocsmár É., Schmid M., Cosenza-Contreras M., Kocsmár I., Föll M., Krey L. et al. Proteome alterations in human autopsy tissues in relation to time after death. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023;80(5):117. DOI: 10.1007/s00018-023-04754-3.
5. Cao L., Huang C., Zhou D.C., Hu Y., Lih T.M., Savage S.R. et al. Proteogenomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell*. 2021;184(19):5031–5052. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.023.
6. Sidova M., Tomankova S., Abaffy P., Kubista M., Sindelka R. Effects of post-mortem and physical degradation on RNA integrity and quality. *Biomolecular Detection and Quantification*. 2015;5:3–9. DOI: 10.1016/j.bdq.2015.08.002.
7. Johnson E.S., Stenzel K.E., Lee S., Blalock E.M. Declining RNA integrity in control autopsy brain tissue is robustly and asymmetrically associated with selective neuronal mRNA signal loss. *BioRxiv*. 2021;2021. DOI: 10.1101/2021.09.07.459326.
8. Fan J., Khani R., Sakamoto H., Zhong Y., Michae C., Pen D. et al. Quantification of nucleic acid quality in postmortem tissues from a cancer research autopsy program. *Oncotarget*. 2016;7(41):66906. DOI: 10.18632/oncotarget.11836.
9. White K., Yang P., Li L., Farshori A., Medina A.E., Zielke H.R. Effect of postmortem interval and years in storage on RNA quality of tissue at a repository of the NIH NeuroBioBank. *Biopreservation and Biobanking*. 2018;16(2):148–157. DOI: 10.1089/bio.2017.0099.
10. Van der Linden A., Blokker B.M., Kap M., Weustink A.C., Riegman P.H., Oosterhuis J.W. Post-mortem tissue biopsies obtained at minimally invasive autopsy: an RNA-quality analysis. *PLoS One*. 2014;9(12):e115675. DOI: 10.1371/journal.pone.0115675.
11. Miyahara K., Hino M., Yu Z., Ono C., Nagaoka A., Hatano M. et al. The influence of tissue pH and RNA integrity number on gene expression of human postmortem brain. *Frontiers in Psychiatry*. 2023;14:1156524. DOI: 10.3389/fpsyt.2023.1156524.
12. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*. 2001;29(9):e45–45. DOI: 10.1093/nar/29.9.e45/
13. Schroeder A., Mueller O., Stocker S., Salowsky R., Leiber M., Gassmann M. et al. The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. *BMC Molecular Biology*. 2006;7:1–14. DOI: 10.1186/1471-2199-7-3.
14. Thompson K.L., Pine P.S., Rosenzweig B.A., Turpaz Y., Retief J. Characterization of the effect of sample quality on high density oligonucleotide microarray data using progressively degraded rat liver RNA. *BMC Biotechnology*. 2007;7:1–12. DOI: 10.1186/1472-6750-7-57.
15. Weickert C.S., Sheedy D., Rothmond D.A., Dedova I., Fung S., Garrick T. et al. Selection of reference gene expression in a schizophrenia brain cohort. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*. 2010;44(1):59–70. DOI: 10.3109/00048670903393662.
16. Hostiuc S., Rusu M.C., Mănoiu V.S., Vrapciu A.D., Negoii I., Popescu M.V. Usefulness of ultrastructure studies for the estimation of the postmortem interval. A systematic review. *Rom. J. Morphol. Embryol*. 2017;58(2):377–384.
17. Kvastad L., Carlberg K., Larsson L., Villacampa E.G., Stuckey A., Stenbeck L. et al. The spatial RNA integrity number assay for in situ evaluation of transcriptome quality. *Communications Biology*. 2021;4(1):57. DOI: 10.1038/s42003-020-01573-1.
18. Vennemann M., Koppelkamm A. mRNA profiling in forensic genetics I: possibilities and limitations. *Forensic Science International*. 2010;203(1-3):71–75. DOI: 10.1016/j.forsci-int.2010.07.006.
19. Stan A.D., Ghose S., Gao X.M., Roberts R.C., Lewis-Amezquita K., Hatanpaa K.J. et al. Human postmortem tissue: what quality markers matter? *Brain Research*. 2006;1123(1):1–11. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.09.025.
20. Sobue S., Sakata K., Sekijima Y., Qiao S., Murate T., Ichihara M. Characterization of gene expression profiling of

- mouse tissues obtained during the postmortem interval. *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(3):482–492. DOI: 10.1016/j.yexmp.2016.05.007.
21. Heimberger A.B., Crotty L.E., Archer G.E., McLendon R.E., Friedman A., Dranoff G. et al. Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor homogenate induce immunity against syngeneic intracerebral glioma. *Journal of Neuroimmunology*. 2020;103(1):16–25. DOI: 10.1016/s0165-5728(99)00172-1.
22. Padhi B.K., Singh M., Rosales M., Pelletier G., Cakmak S. A PCR-based quantitative assay for the evaluation of mRNA integrity in rat samples. *Biomolecular Detection and Quantification*. 2018;15:18–23. DOI: 10.1016/j.bdq.2018.02.001.
23. Fleige S., Pfaffl M.W. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance. *Molecular Aspects of Medicine*. 2006;27(2-3):126–139. DOI: 10.1016/j.mam.2005.12.003.

Вклад авторов

Буйко Е.Е. – анализ литературы, получение и интерпретация экспериментальных данных, написание текста статьи. Перина Е.А. – определение динамических изменений целостности РНК, написание текста статьи. Васильченко Д.В. – проведение гистологического исследования. Цыденова И.А. – молекулярно-биологическое исследование. Хмелевская Е.С. – сбор биообразцов. Уфандеев А.А. – статистическая обработка данных. Кайдаш О.А. – организация сбора биообразцов для комплексной оценки параметров молекулярно-биологического исследования. Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Вторушин С.В. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Удут Е.В. – координация выполнения исследования, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

Буйко Евгений Евгеньевич – мл. науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Перина Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник, Центр доклинических исследований, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, catherineperina@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-4273-8228>

Васильченко Дмитрий Владимирович – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, vasilchenkodmitry1991@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9780-0770>

Цыденова Ирина Александровна – лаборант, Центр доклинических исследований, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, tsydenova422@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2716-3075>

Хмелевская Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, Центр биологических исследований и биоинженерии, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kat.hmelevsk@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1776-4149>

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

Кайдаш Ольга Александровна – ст. науч. сотрудник, Центр доклинических исследований, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kaidash_2011@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8761-7537>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, доцент, руководитель Центра доклинических исследований, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3326-729X>

Вторушин Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, vtorushin.sv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

Удут Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией, СибГМУ, г. Томск, udut.ev@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6104-4782>

(✉) Буйко Евгений Евгеньевич, buykoevgen@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.05.2024;
одобрена после рецензирования 19.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024



УДК 616.895.8–07–08–02:616.89–008.45/.48
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-15-21>

Особенности структурных и функциональных изменений головного мозга у больных шизофренией

Галкин С.А.¹, Корнетова Е.Г.¹, Корнетов А.Н.², Петкун Д.А.¹, Бохан Н.А.^{1,2}

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Установить особенности структурных и функциональных изменений головного мозга у больных шизофренией.

Материалы и методы. Проведен морфометрический анализ магнитно-резонансных изображений головного мозга, а также клиническая оценка электроэнцефалограммы (ЭЭГ) 35 больных шизофренией (20 мужчин и 15 женщин). В контрольную группу вошли 18 здоровых лиц (10 мужчин и 8 женщин), которые были подобраны по возрасту и полу основной группе пациентов. Статистическая обработка проводилась с помощью критерия χ^2 и точного критерия Фишера, а также корреляционного анализа Спирмена.

Результаты. По сравнению с группой контроля у больных шизофренией статистически значимо чаще обнаруживаются признаки расширения желудочков ($p = 0,039$), асимметрии боковых желудочков ($p = 0,041$), отека перивентрикулярных зон ($p < 0,001$) и расширения субарахноидального пространства мозжечка ($p = 0,004$). Модификации (класс $>1A$) функциональной активности мозга в группе больных шизофренией были выявлены в 65,7% случаев. Более чем в половине случаев у больных шизофренией обнаруживалось замедление биоэлектрической активности мозга (класс 2 – 48,6% и класс 3 – 11,4%), одновременно с этим у небольшой части пациентов выявлялись ЭЭГ-признаки пароксизмальной активности (класс В – 11,4% и класс С – 5,7%) ($p < 0,001$). Выявлена статистически значимая прямая корреляция между расширением субарахноидального пространства мозжечка и пароксизмальной активностью у больных шизофренией ($r_s = 0,377$; $p = 0,044$).

Заключение. Полученные данные в нашем исследовании подчеркивают, что совместное использование магнитно-резонансной томографии и ЭЭГ может предоставить важную информацию о мозговой патологии при шизофрении. Полученные нами результаты имеют значение для проверки гипотезы о связи дисциркуляторных и функциональных нарушений головного мозга у больных шизофренией.

Ключевые слова: шизофрения, мозговая патология, магнитно-резонансная томография, электроэнцефалография, пароксизмальная активность

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

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках выполнения госзадания № 075-01392-23-00 «Персонализированная диагностика и терапия больных полиморбидными расстройствами шизофренического и аффективного спектра», регистрационный номер 123041900006-4.

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 157 от 18.11.2022).

✉ Галкин Станислав Алексеевич, s01091994@yandex.ru

Для цитирования: Галкин С.А., Корнетова Е.Г., Корнетов А.Н., Петкун Д.А., Бохан Н.А. Особенности структурных и функциональных изменений головного мозга у больных шизофренией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-15-21>.

Features of structural and functional changes of the brain in patients with schizophrenia

Galkin S.A.¹, Kornetova E.G.¹, Kornetov A.N.², Petkun D.A.¹, Bokhan N.A.^{1,2}

¹ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), the Russian Academy of Sciences

4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

² Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To establish the features of structural and functional changes in the brain in patients with schizophrenia.

Materials and methods. A morphometric analysis of the brain using MRI scans was performed, along with a clinical assessment of the electroencephalogram (EEG) of 35 patients with schizophrenia (20 men and 15 women). The control group included 18 healthy sex- and age-matched individuals (10 men and 8 women). Statistical processing was carried out using the χ^2 test, the Fisher's exact test, and the Spearman's rank correlation coefficient.

Results. Compared to the control group, patients with schizophrenia were significantly more likely to show signs of ventricular dilation ($p = 0.039$), asymmetry of the lateral ventricles ($p = 0.041$), periventricular edema ($p < 0.001$), and enlargement of the subarachnoid space of the cerebellum ($p = 0.004$). Changes (class >1A) in the functional activity of the brain in the group of patients with schizophrenia were detected in 65.7% of the cases. In more than half of the cases, patients with schizophrenia showed decreased bioelectric activity of the brain (class 2 in 48.6% and class 3 in 11.4%); at the same time, EEG signs of paroxysmal activity were detected in a few patients (class B in 11.4% and class C in 5.7%) ($p < 0.001$). A statistically significant direct correlation was found between the enlargement of the subarachnoid space of the cerebellum and paroxysmal EEG activity in patients with schizophrenia ($r = 0.377$; $p = 0.044$).

Conclusion. The findings of our study highlight that the combined use of MRI and EEG can provide important information about brain pathology in schizophrenia. The data obtained are also important for testing the hypothesis on the association between vascular and functional disorders of the brain in patients with schizophrenia.

Keywords: schizophrenia, brain pathology, magnetic resonance imaging, electroencephalography, paroxysmal activity

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

Source of financing. The study was conducted as part of the state assignment No. 075-01392-23-00 "Personalized diagnosis and therapy of patients with polymorbid disorders of the schizophrenic and affective spectrum", registration number 123041900006-4.

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Mental Health Research Institute of Tomsk NRMС (Protocol No. 157 of 18.11.2022).

For citation: Galkin S.A., Kornetova E.G., Kornetov A.N., Petkun D.A., Bokhan N.A. Features of structural and functional changes of the brain in patients with schizophrenia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-15-21>.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование структурно-функциональных особенностей мозга у пациентов с шизофренией остается одним из наиболее активно развиваемых направлений в психиатрии [1, 2]. Многие исследования, проведенные ранее, наглядно показали, что при шизофрении наблюдается атрофия серого вещества в различных отделах головного мозга [1–4]. Даже на ранних этапах заболевания у пациентов с первым эпизодом шизофрении отмечается снижение содержания серого вещества в таких областях, как височная извилина, дорсолатеральная часть передней коры, нижняя часть лобной извилины, таламус, гиппокамп, миндалина и т.д. [4, 5]. Помимо этого было установлено наличие дисциркуляторных очагов и множественных кист, расширение и асимметрия боковых желудочков [6, 7].

В литературе, посвященной нейрофизиологическим (электроэнцефалографическим) исследованиям, неоднократно описывалось уплощение амплитуды негативной волны – N100 слуховых вызванных потенциалов (ВП) при шизофрении [8, 9], хотя имеются и противоположные данные [10], говорящие о том, что амплитуда N100 существенно не меняется у пациентов с шизофренией по сравнению с контрольной группой. Однако у относительно высокого процента лиц с этим расстройством обнаруживаются изменения на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) в виде генерализованной медленноволновой активности (дельта- и тета-волны), асимметрии, наличия острых волн и (или) комплексов спайк–волна (пароксизмальные паттерны) [11–13].

Сводя вышеуказанные данные, можно сказать, что, несмотря на большое количество проведенных ранее оригинальных исследований, результаты изучения структурно-функциональных изменений головного мозга у пациентов с шизофренией довольно неоднозначны, что вызывает много дискуссий относительно разнообразия механизмов (патогенеза) заболевания и нестабильности его диагностических критериев.

Однако несмотря на широкое распространение новых высокотехнологичных методов (позитронно-эмиссионная томография, однофотонная эмиссионная томография, магнитоэнцефалография, функциональная магнитно-резонансная томография (МРТ) и др.), исследования структурно-функциональных характеристик при изучении мозговых заболеваний, методы ЭЭГ и МРТ остаются наиболее адекватными в отображении патологических процессов в головном мозге. Электроэнцефалография имеет почти столетнюю историю и является одним из первых физиологических методов, использованным для из-

учения функциональной активности мозга больных шизофренией, и на сегодняшний день остается все еще довольно популярным способом изучения мозга. В целом биоэлектрические импульсы возникают в результате суммированной дендритной тормозной и возбуждающей постсинаптической активности миллиардов нейронов, прежде всего пирамидных клеток в неокортексе головного мозга [14]. Одним из основных ограничений метода является лишь сложность определения источника записанной активности, поскольку генераторы импульсной активности в разных участках мозга могут воспроизводить один и тот же паттерн ЭЭГ, зафиксированный дистально на коже головы [15]. Высокая временная чувствительность и низкое пространственное разрешение ЭЭГ компенсируются информацией структурной МРТ, которая имеет полную противоположность: высокое пространственное разрешение, но низкую временную чувствительность [16]. Структурная МРТ дает подробную информацию о том, в каких областях мозга наблюдается патологическое изменение при многих заболеваниях, включая шизофрению [17].

Цель исследования – установить особенности структурных и функциональных изменений головного мозга у больных шизофренией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 157 от 18.11.2022). Все участники исследования (подписали информированное согласие на участие в исследовании).

Всего в рамках данного исследования было отобрано 35 больных шизофренией (20 мужчин и 15 женщин), проходивших лечение в отделении эндогенных расстройств клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Критерии включения в исследование: возраст больных от 18 до 55 лет, установленный диагноз шизофрении по критериям МКБ-10 (F20), продолжительность заболевания не менее 1 года, согласие на участие в исследовании. Критерии невключения: зависимость от психоактивных веществ (кроме табака), деменция, наличие отягощенного неврологического анамнеза (травмы головного мозга, инсульт), отказ от участия в исследовании.

Возраст пациентов, включенных в исследование, составил 37 [32; 44] лет. Длительность заболевания – 15 [11; 21] лет. Пациенты на момент включения в исследование получали базисную терапию препаратами из группы атипичных антипсихотиков второго поколения (CPZeq – 400 [200; 600] мг/сут), длительность базисной терапии составила – 4 [3; 8] года. Оценка тяжести психопатологической

симптоматики проводилась по шкале PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) [18] в адаптированной русской версии – SCI-PANSS [19]. Общий балл PANSS у пациентов составил 81 [68; 101]. Выраженность позитивной симптоматики составила 12 [9; 27] баллов против 23 [20; 26] негативной при обсессивно-психопатологической симптоматике 44 [39; 53].

В контрольную группу вошли 18 здоровых лиц (10 мужчин и 8 женщин), которые были подобраны по возрасту и полу основной группе пациентов ($p > 0,05$) с аналогичными критериями исключения.

Методология проведения инструментального исследования (МРТ и ЭЭГ) подробно представлена в наших предыдущих работах [6, 11].

Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения R 4.2.2. Проверка на согласие с законом нормального распределения осуществлялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные не подчинялись закону о нормальности распределения. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Качественные данные представлены частотными показателями в абсолютных и относительных единицах – n (%). Для сопоставления частот использовался критерий χ^2 и точный критерий Фишера (в случае частот менее 5). Для выявления связей между изучаемыми параметрами применялся корреляционный анализ Спирмена (r_s). Пороговый уровень статистической значимости p был принят равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным морфометрического анализа МР-изображений головного мозга в исследуемых группах пациентов и контроля обнаружены следующие патологические изменения: расширение и (или) асимметрия боковых желудочков, отек перивентрикулярных зон, расширение субарахноидального пространства больших полушарий и (или) мозжечка, наличие кист в отделах мозга (табл. 1).

Таблица 1

Данные морфометрического анализа МР-изображений мозга в исследуемых группах пациентов и контроля, n (%)			
МР-параметр	Пациенты с шизофренией, $n = 35$	Группа контроля, $n = 18$	p
Расширение желудочков	12 (34,3%)	1 (5,6%)	0,039*
Асимметрия боковых желудочков	11 (31,4%)	1 (5,6%)	0,041*
Отек перивентрикулярных зон	31 (88,6%)	6 (33,3%)	<0,001*
Расширение субарахноидального пространства больших полушарий	13 (37,1%)	4 (22,2%)	0,358

Окончание табл. 1

МР-параметр	Пациенты с шизофренией, $n = 35$	Группа контроля, $n = 18$	p
Расширение субарахноидального пространства мозжечка	30 (85,7%)	8 (44,4%)	0,004*
Наличие кист	8 (22,8%)	2 (11,1%)	0,463

* статистически значимые различия здесь и в табл. 2, 3.

По сравнению с группой контроля у больных шизофренией статистически значимо чаще обнаруживаются МР-признаки расширения желудочков ($p = 0,039$), асимметрии боковых желудочков ($p = 0,041$), отека перивентрикулярных зон ($p < 0,001$) и расширения субарахноидального пространства мозжечка ($p = 0,004$).

При обобщении полученных данных ЭЭГ, модификации (класс >1А) функциональной активности мозга в группе больных шизофренией были выявлены в 65,7% случаев (табл. 2).

Таблица 2

Модификации ЭЭГ в исследуемых группах пациентов и контроля, n (%)			
Модификации ЭЭГ	Пациенты с шизофренией, $n = 35$	Группа контроля, $n = 18$	
Оценка замедления (класс)	1	14 (40%)	18 (100%)
	2	17 (48,6%)	—
	3	4 (11,4%)	—
	4	—	—
Оценка пароксизмальной активности (класс)	A	29 (82,9%)	18 (100%)
	B	4 (11,4%)	—
	C	2 (5,7%)	—
	D	—	—

* $p < 0,001$.

Более чем в половине случаев у больных шизофренией обнаруживалось замедление биоэлектрической активности мозга (класс 2 – 48,6% и класс 3 – 11,4%), одновременно с этим у небольшой части пациентов выявлялись ЭЭГ-признаки пароксизмальной активности (класс В – 11,4% и класс С – 5,7%).

В табл. 3 приведены данные корреляционного анализа модификаций ЭЭГ в зависимости от выявленных патологических изменений по данным морфометрического анализа МР-изображений мозга у больных шизофренией.

Получена статистически значимая корреляция между пароксизмальной активностью на ЭЭГ и расширением субарахноидального пространства мозжечка у больных шизофренией ($r_s = 0,377$; $p = 0,044$).

Таблица 3

Связь параметров МР-изображений мозга и ЭЭГ у больных шизофренией		
МР-параметр	Замедление ЭЭГ	Пароксизмальная активность
Расширение желудочков	$r_s = 0,022$ $p = 0,923$	$r_s = 0,189$ $p = 0,409$
Асимметрия боковых желудочков	$r_s = 0,092$ $p = 0,691$	$r_s = 0,148$ $p = 0,521$
Отек перивентрикулярных зон	$r_s = 0,099$ $p = 0,666$	$r_s = 0,116$ $p = 0,613$
Расширение субарахноидального пространства больших полушарий	$r_s = 0,144$ $p = 0,531$	$r_s = 0,152$ $p = 0,509$
Расширение субарахноидального пространства мозжечка	$r_s = 0,225$ $p = 0,326$	$r_s = 0,377$ $p = 0,044^*$
Наличие кист	$r_s = 0,111$ $p = 0,632$	$r_s = 0,146$ $p = 0,527$

Статистически значимых корреляций с клиническими параметрами пациентов (возраст, длительность заболевания, длительность базисной терапии, тяжесть психопатологической симптоматики по PANSS) нам обнаружить не удалось (все $p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные в нашем оригинальном исследовании данные указывают на наличие обширных структурных и функциональных изменений головного мозга у больных шизофренией. Выявленные посредством МРТ дисциркуляторные нарушения при шизофрении согласуются с результатами более ранних работ [4, 5, 20, 21]. Как известно, обнаруженные МР-параметры не являются самостоятельными заболеваниями, а возникают в ответ на патологические процессы, протекающие в головном мозге. Тем не менее, в отличие от ряда предыдущих исследований [4, 5], нам не удалось установить значимые корреляции аномалий головного мозга с клинико-динамическими особенностями шизофрении, что, возможно, обусловлено врожденным характером патологических изменений мозга. Так, например, с заключением о расширении субарахноидального пространства нередко сталкиваются родители новорожденных детей. Эти фенотипические особенности отражают нарушения эмбриоморфогенеза, возникающие в результате констелляции наследственных факторов и перинатальных воздействий, клиническая оценка которых имеет важное значение для идентификации аномалий развития нервной системы [22].

Нами также выявлены значимые изменения функциональной активности головного мозга больных шизофренией в виде замедления биоэлектрических потенциалов и появления пароксизмальной активности на ЭЭГ.

Предполагается, что указанные изменения связаны с дефицитом торможения проекций ГАМКергических нейронов коры на пирамидные нейроны. Это может привести к неконтролируемому возбуждению (гипервозбуждению) пирамидных нейронов, которые, в свою очередь, воздействуют на свои мишени, вызывая эксайтотоксические изменения, приводящие к регрессии нейросетей из-за потери дендритов и синапсов. Подтверждением этой модели являются данные о потере объема сомы в первичной и вторичной коре – сомальный объем пирамидных клеток коррелирует со степенью ветвления дендритов [23]. Следует также отметить, что нарушение ГАМКергического-глутаматергического взаимодействия в пирамидных нейронах мозга является одним из главных механизмов эпилептогенеза [24].

Кроме того, нами обнаружена значимая связь между данными МРТ и ЭЭГ, а именно прямая корреляция между расширением субарахноидального пространства мозжечка и наличием пароксизмальной активности у больных шизофренией, что согласуется с клиническими случаями больных эпилепсией [25, 26]. Как известно, обнаружение пароксизмальной активности на ЭЭГ указывает на склонность к развитию судорожных состояний. Пароксизмальная активность отражает изменение функционирования базовых нейрофизиологических процессов с увеличением активности подкорковых синхронизирующих регуляторов, способствующих возникновению судорожных припадков. В клинической практике информация о структурах мозга, которые могут вызывать пароксизмальную активность на ЭЭГ, имеет большую ценность, особенно для пациентов с шизофренией, получающих длительную терапию антипсихотиками и, в ряде случаев, антидепрессантами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные в нашем исследовании данные подчеркивают, что совместное использование МРТ и ЭЭГ может предоставить важную информацию о мозговой патологии при шизофрении. Полученные результаты также вносят вклад в усилия по поиску специфических структурных и функциональных нейробиомаркеров шизофрении.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лебедева И.С. Поиск «сохранных» структурно-функциональных систем головного мозга как смена парадигмы в исследовании шизофрении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015;115(2):37–41. DOI: 10.17116/jnevro20151152137-41.
2. McCarley R.W., Nakamura M., Shenton M.E., Salisbury D.F. Combining ERP and structural MRI information in first

- episode schizophrenia and bipolar disorder. *Clin. EEG Neurosci.* 2008;39(2):57–60. DOI: 10.1177/155005940803900206.
3. Шамрей В.К., Пучков Н.А., Тарумов Д.А., Труфанов А.Г., Маркин К.В., Прочик Я.Е., Богдановская А.С. Микроструктурная патология головного мозга при параноидной шизофрении (по данным магнитно-резонансной трактографии). *Психиатрия*. 2023;21(2):38–49. DOI: 10.30629/2618-6667-2023-21-2-38-49.
4. Mørch-Johnsen L., Agartz I., Jensen J. The neural correlates of negative symptoms in schizophrenia: examples from MRI literature. *Clin. EEG Neurosci.* 2018;49(1):12–17. DOI: 10.1177/1550059417746214.
5. Ellison-Wright I., Glahn D.C., Laird A.R., Thelen S.M., Bullmore E. The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. *Am. J. Psychiatry*. 2008;165(8):1015–1023. DOI: 10.1176/appi.ajp.2008.07101562.
6. Корнетова Е.Г., Коваль С.Д., Корнетов А.Н., Паршукова Д.А., Иванова С.А., Семке А.В. и др. Мозговая патология при шизофрении: связь с клиническими и конституциональными факторами. *Якутский медицинский журнал*. 2019;65(1):17–21. DOI: 10.25789/YMJ.2019.65.05.
7. Del Re E.C., Bouix S., Fitzsimmons J., Blokland G.A.M., Meshulam-Gately R., Wojcik J. et al. Diffusion abnormalities in the corpus callosum in first episode schizophrenia: Associated with enlarged lateral ventricles and symptomatology. *Psychiatry Res.* 2019;277:45–51. DOI: 10.1016/j.psychres.2019.02.038.
8. Kropotov J.D., Pronina M.V., Ponomarev V.A., Poliakov Y.I., Plotnikova I.V., Mueller A. Latent ERP components of cognitive dysfunctions in ADHD and schizophrenia. *Clin. Neurophysiol.* 2019;130(4):445–453. DOI: 10.1016/j.clinph.2019.01.015.
9. Rosburg T. Auditory N100 gating in patients with schizophrenia: A systematic meta-analysis. *Clin. Neurophysiol.* 2018;129(10):2099–2111. DOI: 10.1016/j.clinph.2018.07.012.
10. Lijffijt M., Cox B., Acas M.D., Lane S.D., Moeller F.G., Swann A.C. Differential relationships of impulsivity or antisocial symptoms on P50, N100, or P200 auditory sensory gating in controls and antisocial personality disorder. *J. Psychiatr. Res.* 2012;46(6):743–750. DOI: 10.1016/j.jpsychres.2012.03.001.
11. Галкин С.А., Корнетова Е.Г., Иванова С.А. Сравнительный анализ электроэнцефалограммы у больных шизофренией, получающих различные атипичные антипсихотики. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):15–22. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-1-15-22.
12. Гашкаримов В.Р., Султанова Р.И., Ефремов И.С., Асадуллин А.Р. Использование методов машинного обучения в диагностике и прогнозировании клинических особенностей шизофрении: нарративный обзор литературы. *Consortium Psychiatricum*. 2023;4(3):43–53. DOI: 10.17816/CP11030.
13. Arora M., Knott V.J., Labelle A., Fisher D.J. Alterations of resting EEG in hallucinating and nonhallucinating schizophrenia patients. *Clin. EEG Neurosci.* 2021;52(3):159–67. DOI: 10.1177/1550059420965385.
14. Müller-Putz G.R. Electroencephalography. *Handb. Clin. Neurol.* 2020;168:249–262. DOI: 10.1016/B978-0-444-63934-9.00018-4.
15. Mari-Acevedo J., Yelvington K., Tatum W.O. Normal EEG variants. *Handb. Clin. Neurol.* 2019;160:143–160. DOI: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00009-6.
16. Liu Z., Ding L., He B. Integration of EEG/MEG with MRI and fMRI. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* 2006;25(4):46–53. DOI: 10.1109/memb.2006.1657787.
17. Lancaster T.M., Dimitriadis S.I., Perry G., Zammit S., O'Donovan M.C., Linden D.E. Morphometric Analysis of Structural MRI Using Schizophrenia Meta-analytic Priors Distinguish Patients from Controls in Two Independent Samples and in a Sample of Individuals With High Polygenic Risk. *Schizophr. Bull.* 2022;48(2):524–532. DOI: 10.1093/schbul/sbab125.
18. Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 1987;13(2):261–276. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.
19. Мосолов С.Н. Шкалы психометрической оценки симптоматики шизофрении и концепция позитивных и негативных расстройств. М., 2001:238.
20. Micoulaud-Franchi J.A., Balzani C., Faugere M. Neurophysiologie clinique en psychiatrie: 1 – Techniques, vocabulaires et indications de l'électroencéphalographie conventionnelle. *Annales Médico-psychologiques Revue Psychiatrique*. 2013;171:334–341. DOI: 10.1016/j.amp.2013.04.005.
21. Chiapponi C., Piras F., Fagioli S., Piras F., Caltagirone C., Spalletta G. Age-related brain trajectories in schizophrenia: a systematic review of structural MRI studies. *Psychiatry Res.* 2013;214(2):83–93. DOI: 10.1016/j.psychresns.2013.05.003.
22. Никитюк Б.А., Корнетов Н.А. Интегративная биомедицинская антропология. Томск: Томский государственный университет, 1998:82.
23. Sweet R.A., Bergen S.E., Sun Z., Marcsisin M.J., Sampson A.R., Lewis D.A. Anatomical evidence of impaired feedforward auditory processing in schizophrenia. *Biol. Psychiatry*. 2007;61(7):854–864. DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.07.033.
24. Евстигнеев В.В., Кистень О.В. Базовые механизмы эпилептогенеза и эпилепсии. Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. *Серыя медыцынскіх навук*. 2011;(3):106–114.
25. Rhodes R.H., Lehman R.M., Wu B.Y., Roychowdhury S. Focal chronic inflammatory epileptic encephalopathy in a patient with malformations of cortical development, with a review of the spectrum of chronic inflammatory epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2007;48(6):1184–1202. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01034.x.
26. Boling W., Kore L. Subarachnoid hemorrhage-related epilepsy. *Acta Neurochir. Suppl.* 2020;127:21–25. DOI: 10.1007/978-3-030-04615-6_4.

Вклад авторов

Галкин С.А. – нейрофизиологическое обследование пациентов, анализ данных, написание текста рукописи. Корнетова Е.Г. – разработка дизайна и концепции исследования, клинико-психопатологическое и психометрическое обследование выборки, проверка критически важного интеллектуального содержания. Корнетов А.Н. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, написание и редактирование текста рукописи. Петкун Д.А. – психометрическое обследование пациентов. Бохан Н.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Галкин Станислав Алексеевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, s01091994@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7709-3917>

Корнетова Елена Георгиевна – д-р мед. наук, зав. отделением эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, ekornetova@outlook.com, <http://orcid.org/0000-0002-5179-9727>

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

Петкун Дмитрий Александрович – мл. науч. сотрудник, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, substantia_p@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6587-6347>

Бохан Николай Александрович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, директор НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ, г. Томск, bna909@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1052-855X>

(✉) Галкин Станислав Алексеевич, s01091994@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.07.2024;
одобрена после рецензирования 30.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616-002.1-092:612.112.91.085.2

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-22-30>

Трансформация нейтрофильных сетей под влиянием патогенов и иммуноглобулинов класса G

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э.,
Рогожина Л.С.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Исследования многих авторов показали, что в периферической крови пациентов с воспалительными заболеваниями присутствуют нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ, NETs) в морфологической форме нейтрофильных сетей. В наших исследованиях помимо традиционной структуры НЭЛ в виде нейтрофильных сетей были выявлены некоторые аномальные формы, в том числе и вуалеобразные формы НЭЛ.

Цель. Исследование морфофункциональной трансформации НЭЛ под влиянием *Klebsiella pneumoniae* и иммуноглобулинов класса G (IgG).

Материалы и методы. В исследование включены 42 больных 51-й ГКБ г. Москвы: 28 – с острыми воспалительными процессами в брюшной полости (аппендицит, холецистит, панкреатит, перитонит), шесть – с диагнозом «язвенный колит», восемь – с грыжами. Нейтрофилы выделяли, используя градиентное центрифугирование. Для подсчета НЭЛ использовали флуоресцентную микроскопию с красителем SYBR Green (ЗАО «Евроген», Россия), специфично взаимодействующего с двухцепочечной ДНК. Функциональную активность НЭЛ определяли в тесте с захватом *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Результаты. У больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости в послеоперационном периоде функциональная активность НЭЛ ослаблена по сравнению со здоровыми в несколько раз. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки у этих больных захватывают и связывают не более 20 клеток микроорганизма. Под влиянием IgG нейтрофильные сети превращаются в рыхлые вуалеобразные структуры. Эти нейтрофильные структуры обладают очень слабой способностью к захвату и связыванию патогена, соединяя $8,46 \pm 0,44$ клеток микроорганизма. Спонтанная ферментативная деградация нейтрофильных «вуалей» может сопровождаться продукцией факторов вторичной альтерации.

Заключение. Результаты исследования создают предпосылки для формирования новых подходов к разработке режимов вакцинации и применения иммунобиологических препаратов, требующих предварительного контроля состояния врожденного иммунитета, в частности, нейтрофильных сетей в организме пациентов.

Ключевые слова: нейтрофильные экстраклеточные ловушки, нейтрофильные сети, нейтрофильные вуали, воспаление, функциональная активность НЭЛ, вакцинация, лечение иммунобиологическими препаратами

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

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

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Рогожина Л.С. Трансформация нейтрофильных сетей под влиянием патогенов и иммуноглобулинов класса G. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):22–30. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-22-30>.

Transformation of NETs under the effect of pathogens and IgG

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Kim A.E., Rogozhina L.S.

*Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation*

ABSTRACT

Background. Many studies have shown that neutrophil extracellular traps (NETs) in the form of web-like structures are present in the peripheral blood of patients with inflammatory diseases. In our research, in addition to traditional web-like NET structures, several anomalous forms were identified, including NETs with cloud-like appearance.

Aim. To investigate morphological and functional transformation of NETs under the influence of *Klebsiella pneumoniae* and immunoglobulin G (IgG).

Materials and methods. The study included 42 patients of Moscow City Clinical Hospital No. 51: 28 patients with acute inflammation in the abdominal cavity (appendicitis, cholecystitis, pancreatitis, peritonitis), 6 patients diagnosed with ulcerative colitis, and 8 patients with hernias. Neutrophils were isolated using gradient-density centrifugation. To calculate NETs, we used SYBR Green I-induced fluorescence microscopy (Evrogen, Russia), with the dye specifically interacting with double-stranded DNA. The functional activity of NETs was determined in the *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) capture test.

Results. In patients with inflammatory diseases of the abdominal cavity in the postoperative period, the functional activity of NETs was several times lower than in healthy individuals. NETs in these patients capture and bind no more than 20 cells of the microorganism. Under the effect of IgG, neutrophil networks transform into loose cloud-like structures, which can hardly capture and bind the pathogen, binding only 8.46 ± 0.44 cells of the microorganism. Spontaneous enzymatic degradation of cloud like NETs may be accompanied by the production of secondary alteration factors.

Conclusion. The results of the study provide the grounds for the development of new approaches to elaborating vaccination regimens and using immunobiologics that require preliminary monitoring of the state of innate immunity, in particular, neutrophil networks in the patient's body.

Keywords: neutrophil extracellular traps, neutrophil web-like structure, neutrophil cloud-like structures, inflammation, NET functional activity, vaccination, immunobiological therapy

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

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

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 203 of 21.12.2021).

For citation: Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Kim A.E., Rogozhina L.S. Transformation of NETs under the effect of pathogens and IgG. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):22–30. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-22-30>.

ВВЕДЕНИЕ

Факторы врожденного иммунитета, в частности нейтрофилы, осуществляют первую линию защиты на пути внедрения различных чужеродных агентов (вирусных, бактериальных и др.) в организм человека. Многочисленные исследования показали, что защитная функция нейтрофилов осуществляется через формирование нейтрофильных экстраклеточных ло-

вушек (НЭЛ, NETs). Образование НЭЛ является эффективным механизмом борьбы с внедряющимися микроорганизмами, а недостаточность формирования НЭЛ или гидролиз основной нуклеотидной цепи НЭЛ бактериальными ДНК-азами делают организм человека восприимчивым к инфекциям [1].

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки — это форма реагирования предварительно активированных нейтрофилов на контактные взаимодействия с

клетками макроорганизма, находящимися в состоянии апоптоза, а также различными микроорганизмами, в том числе вирусами [2]. Сигналы к раскрытию НЭЛ нейтрофилы периферической крови получают через различные рецепторы врожденного иммунитета (TLR).

Исследования многих авторов показали, что в периферической крови пациентов с воспалительными заболеваниями присутствуют НЭЛ в морфологической форме нейтрофильных сетей. Однако в наших исследованиях помимо традиционной структуры НЭЛ в виде нейтрофильных сетей были выявлены некоторые аномальные формы, в том числе и вуалеобразные формы НЭЛ [3].

Эти вуалеобразные экстраклеточные структуры, происходящие из нейтрофилов, могут формироваться под действием иммуноглобулинов класса G (IgG) [4]. В отдельных сообщениях также встречаются упоминания о вуалеобразных формах нейтрофильных внеклеточных ловушек, которые находили в крови пациентов с воспалительными заболеваниями и у некоторых здоровых доноров [5, 6]. Однако причины, лежащие в основе формирования различных форм нейтрофильных внеклеточных ловушек, все еще остаются неясными. Не ясна и функциональная роль нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологических формах сетей и вуалей.

Цель — исследование морфофункциональной трансформации нейтрофильных внеклеточных ловушек под влиянием *Klebsiella pneumoniae* и IgG.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 42 больных, находившихся на лечении в 51-й ГКБ г. Москвы: 28 человек, прооперированных по поводу острых воспалительных процессов в брюшной полости (острый аппендицит, острый холецистит, острый панкреатит/панкреонекроз, перитонит), шесть больных, находящихся на консервативном лечении с диагнозом «язвенный колит», восемь — с пупочной и паховой грыжами (пять неоперированных и трое после оперативного вмешательства).

Исследование проб крови проводили в лаборатории кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии Института биологии и патологии человека РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Все процедуры выполнялись в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации ВМА (в редакции 2004 г.) и письменного информированного согласия пациентов. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

Получение клеточных фракций нейтрофилов. Для взятия проб крови использовали вакутайнер с ЭДТА для предотвращения свертывания. Выделение нейтрофилов из венозной крови, обработанной ЭДТА, проводили традиционным методом с помощью градиентного центрифугирования. Чистота выделенной фракции нейтрофилов составляла 98–100%. Нейтрофилы дважды отмывали от примесей фиколла натрий-фосфатным буферным раствором (50 мМ, pH 7,4). Осаждение клеток крови проводили при центрифугировании (600 g, 15 мин). Выделенные нейтрофилы ресуспендировали в среде RPMI-1640 и использовали в экспериментах по кратковременному культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов составляла не менее 95% (тест с 0,1%-м раствором трипанового синего).

Иммунофлуоресцентное определение нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Регистрацию нейтрофильных экстраклеточных ловушек проводили с использованием флуоресцентной микроскопии по разработанному нами методу, основные этапы которого описаны ранее [7]. Выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек осуществляли с использованием флуоресцентного красителя SYBR Green (ЗАО «Евроген», Россия), специфично взаимодействующего с двухцепочечной ДНК. Микроскопирование, подсчет и фоторегистрацию клеток и экстраклеточных структур проводили при $\times 1\,000$. Результаты выражали в процентах в виде отношения количества экстраклеточных ловушек к общему числу клеток в поле зрения.

Культивирование нейтрофилов с IgG. К стерильно выделенным клеткам добавляли препарат IgG человека (АО «Сорбент», Россия) и проводили инкубацию с клетками в атмосфере 5%-го CO₂ при 37 °C во всех экспериментах в течение 1 ч. В пробе объемом 100 мкл, приготовленной на среде RPMI-1640, содержались нейтрофилы и препарат IgG (5 мкг/мл). Конечная концентрация клеток в среде культивирования составляла 2×10^5 /мл.

Захват тестового микроорганизма. Определение функциональной активности внеклеточных структур (нейтрофильных сетей) проводили с помощью теста на захват микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). Для этого к нейтрофилам, иммобилизованным на стекле, покрытом полилизинном, добавляли микробную культуру *Klebsiella pneumoniae* в среде RPMI-1640 в концентрации 10^3 /мл. Нейтрофильные сети захватывают тестовый микроорганизм в соответствии с потенциальной функциональной активностью НЭЛ. После окрашивания (SYBR Green, 15 мин) и отмывания избытка красителя в ходе микроскопирования определяли морфологическую структуру нейтрофильных экстраклеточных

ловушек и количество клеток *Klebsiella pneumoniae*, связанное каждой экстраклеточной структурой.

Статистическая обработка. Полученные результаты обрабатывали в программе Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Параметры НЭЛ, полученные при исследовании проб крови больных, обрабатывали методами непараметрической статистики и представляли в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_{25}-Q_{75}]$. Сравнение количественных признаков проводили по ранговому U -критерию Манна – Уитни и данным дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Результаты экспериментов по кратковременному культивированию нейтрофилов, характеризующиеся нормальным распределением, представляли в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), сравнение количественных признаков проводили с применением t -теста Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфологическая характеристика НЭЛ у больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости. У всех обследованных нами больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости в послеоперационном периоде в периферической крови присутствовали НЭЛ в морфологической фор-

ме нейтрофильных сетей. Количество нейтрофильных сетей регистрировалось в диапазоне от 14,2 [7,7–17,9]% при остром аппендиците до 17,6 [10,3–26,6]% при развитии перитонита. Неосложненные нозологические формы абдоминального воспаления в послеоперационном периоде характеризовались сходным количеством НЭЛ в периферической крови. Так, при локальных острых воспалительных процессах относительное количество НЭЛ соответствовало диапазону Me 14,2–15,1%. Разлитое неотграниченное воспаление (перитонит) сопровождалось увеличением численности НЭЛ до уровня Me 17,6% (рис. 1). Таким образом, при распространении воспаления на соседние анатомические области и серозные оболочки брюшной полости (при перитоните) количество нейтрофильных сетей испытывает тенденцию к увеличению ($p = 0,668$).

Определение размеров НЭЛ в микрометрах показало, что у больных с такими воспалительными процессами, как острый холецистит и панкреатит, выявляется статистически значимое ($p = 0,0189$) увеличение размеров нейтрофильных экстраклеточных структур (до 53,65 [43,9–88,45] мкм при остром холецистите и 91,9 [62,0–120,0] мкм – при остром панкреатите) по сравнению с группой больных с диагнозом «острый аппендицит» (44,65 [35,6–57,6] мкм) (рис. 2).

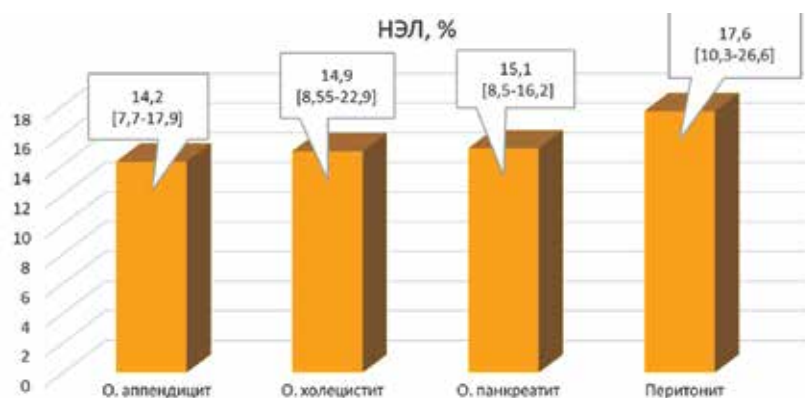


Рис. 1. Количество НЭЛ при воспалительных заболеваниях брюшной полости (послеоперационный период), $Me [Q_{25}-Q_{75}]$, %

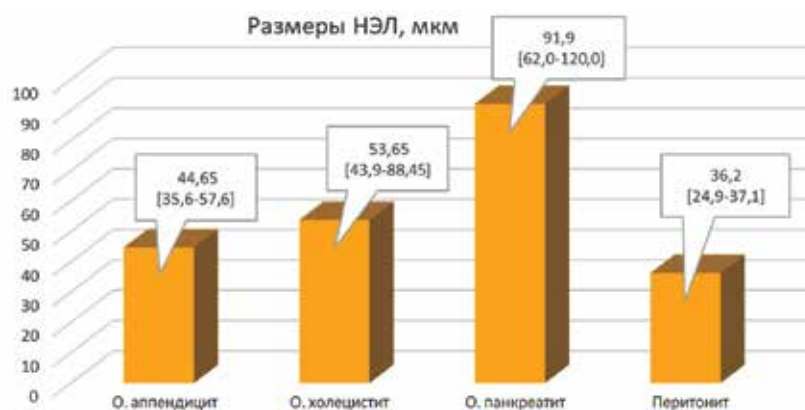


Рис. 2. Размеры НЭЛ при различных воспалительных заболеваниях брюшной полости, $Me [Q_{25}-Q_{75}]$, мкм

При этом, помимо сетевидных структур НЭЛ, у больных были обнаружены дополнительные нейтрофильные структуры – нитевидные, волокнистые и вуалеобразные. Увеличение размеров НЭЛ у пациентов с холециститом и панкреатитом связано именно с присутствием в крови этих необычных, ранее практически не описанных и не исследованных нейтрофильных внеклеточных структур. Наименьшие же размеры НЭЛ были обнаружены у больных язвенным колитом (группа сравнения), получавших консервативное лечение (32,2 [6,3–57,4] мкм).

Исследование морфологической характеристики нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных с воспалительными заболеваниями (рис. 3, 4) поставило перед нами целый ряд важных вопросов, связанных с пониманием процесса функциональной трансформации нейтрофильных внеклеточных структур. Решение вопросов морфофункциональной трансформации нейтрофильных сетей, вероятно, может послужить ключом к пониманию роли тех или иных форм НЭЛ в борьбе с инфекциями и позволит сделать выводы в отношении их функциональной активности.

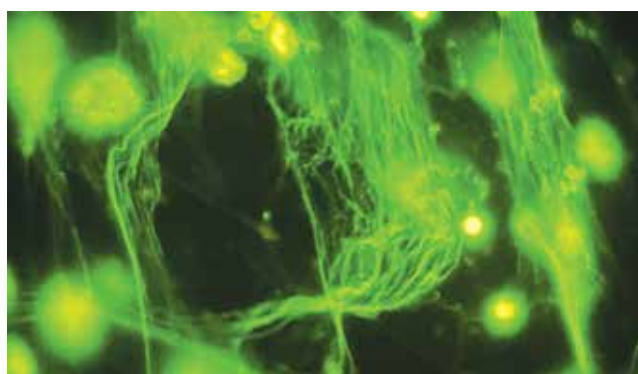


Рис. 3. НЭЛ в морфологической форме нейтрофильных сетей. Сети большого размера. Неосложненный аппендицит после хирургического вмешательства. Пример неосложненного воспалительного процесса с благоприятным течением. Здесь и на рис. 4, 5, 7 время инкубации 1 ч. Окрашивание CYBR Green. $\times 1\,000$

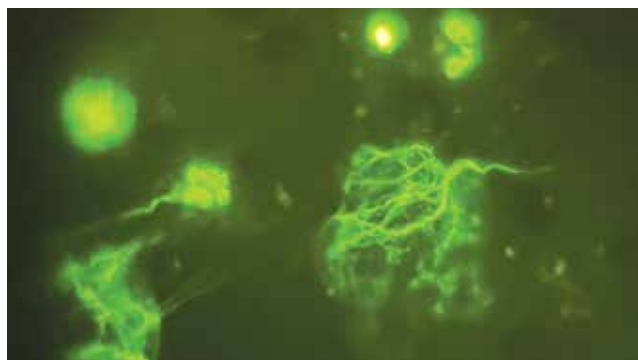


Рис. 4. НЭЛ в морфологической форме нейтрофильных сетей. Язвенный колит (консервативное лечение). Небольшие размеры нейтрофильных сетей

Функциональная характеристика НЭЛ у здоровых доноров и больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости. Для исследования роли НЭЛ в противомикробной защите организма и их функциональной активности нами разработан методический подход, при котором НЭЛ, полученные от обследуемых пациентов, *in vitro* приводили во взаимодействие с клетками тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (АТСС 700603). В процессе взаимодействия нейтрофилов с клетками патогена реализуется защитный потенциал клеток врожденного иммунитета.

Здоровые доноры. Нейтрофилы здоровых доноров обладают высокой функциональной активностью [3]. Контактные взаимодействия с клетками *Klebsiella pneumoniae* вызывают формирование НЭЛ в форме нейтрофильных сетей, захват и связывание большого количества клеток тестового микроорганизма (рис. 5). В ходе этого процесса развивается ректракция волокон нейтрофильной сети и происходит ее преобразование в вуалеобразную структуру. Диапазон связывания клеток патогена НЭЛ здоровых доноров составляет 70–90 клеток на одну «вуаль». Каждая НЭЛ в наших экспериментальных условиях захватывает и удерживает в среднем $78,05 \pm 10,58$ клеток *Klebsiella pneumoniae*. При этом практически все клетки тестового микроорганизма локализованы внутри нейтрофильных внеклеточных структур.

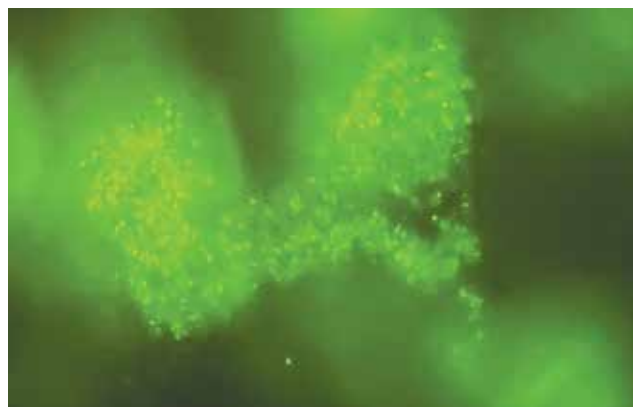


Рис. 5. НЭЛ здоровых доноров захватывают и связывают большое количество клеток *Klebsiella pneumoniae* (АТСС 700603) и приобретают вуалеобразную форму

Больные с воспалительными заболеваниями брюшной полости. У больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости (аппендицит, холецистит, панкреатит) в послеоперационном периоде функциональная активность НЭЛ ослаблена по сравнению со здоровыми донорами в несколько раз. Нейтрофильные внеклеточные структуры у этих больных захватывают и связывают в среднем не более 20 кле-

ток тестового микроорганизма. Часть клеток тестового микроорганизма остается несвязанной внеклеточными нейтрофильными структурами, что может создать вероятность развития послеоперационного инфекционного осложнения у этих больных [8].

Динамика изменения функциональной активности НЭЛ в морфологической форме нейтрофильных сетей. Динамику изменения функциональной активности НЭЛ (захват и связывание патогена) у больных в ходе формирования нейтрофильных экстраклеточных структур в форме нейтрофильных сетей исследовали на группе больных с пупочными и паховыми грыжами. У больных с неущемленными неоперированными грыжами количество клеток патогена, захваченное *in vitro* одной внеклеточной нейтрофильной структурой, изменяется от $4,62 \pm 0,36$ до $26,56 \pm 3,45$ через 1 и 2 ч культивирования соответственно, т.е. увеличивается в ходе культивирования в 5,8 раза.

У прооперированных больных по поводу ущемленных грыж захват патогена уже через 1 ч культивирования достигает $38,17 \pm 3,74$ клеток *Klebsiella pneumoniae* на одну внеклеточную нейтрофильную структуру, а через 2 ч культивирования составляет $25,85 \pm 3,20$ клеток патогена на одну НЭЛ. Причина резкого увеличения уровня захвата и связывания патогена внеклеточными нейтрофильными структурами у прооперированных больных уже через 1 ч культивирования состоит, видимо, в том, что в реакции *in vitro*-взаимодействия нейтрофилов прооперированных больных и клеток патогена участвуют уже предварительно *in vivo*-активированные в ходе воспалительного процесса нейтрофилы.

Последующее снижение функциональной активности НЭЛ у прооперированных больных в течение второго часа культивирования может быть связано с тем, что часть первоначально сформированных нейтрофильных внеклеточных структур в форме нейтрофильных сетей вместе с клетками патогена через 1 ч культивирования превращается в рыхлые вуалеобразные нейтрофильные внеклеточные структуры, которые поглощаются нейтрофилами, способными развивать фагоцитарную активность.

Этот эффект – уменьшение количества НЭЛ после их формирования – был исследован и довольно подробно описан в работах других исследователей *in vivo* и *in vitro* [9]. Проведенные исследования выявили зависимость элиминации образованных НЭЛ как от фагоцитирующей активности нейтрофилов и макрофагов [10, 11], так и от ферментативной активности панкреатической ДНК-азы I [12, 13]. Получены данные о том, что провоспалительные цитокины стимулируют фагоцитоз и ускоряют разрушение НЭЛ макрофагами и дендритными клетками [14].

А у больных с тяжелыми бактериальными инфекциями сосудистые окклюзии были вызваны нарушением элиминации НЭЛ *ex vivo*, которые сопровождались формированием внутрисосудистых тромбов, содержащих НЭЛ [15].

Функциональная характеристика НЭЛ у больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости под влиянием IgG. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки в морфологической форме нейтрофильных сетей очень чувствительны к IgG. Нейтрофильные сети под влиянием IgG превращаются в рыхлые вуалеобразные структуры (рис. 6), при этом их размеры увеличиваются [4], а способность к захвату и связыванию патогена резко ухудшается (рис. 8).

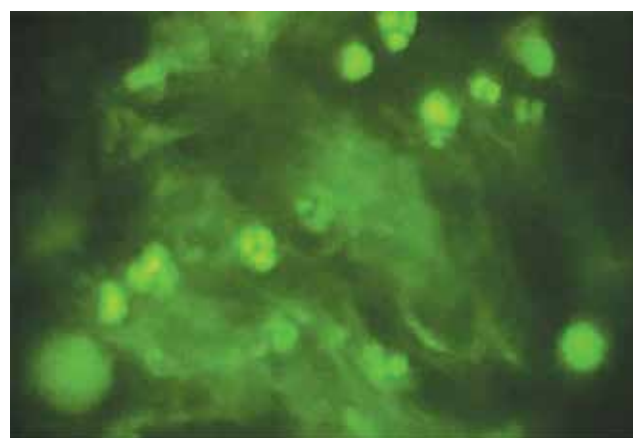


Рис. 6. НЭЛ в морфологической форме вуалей. Вуалеобразные формы НЭЛ получены из нейтрофильных сетей при их инкубации с IgG (5 мкг/мл): время инкубации 30 мин, окрашивание SYBR Green, $\times 1\,000$

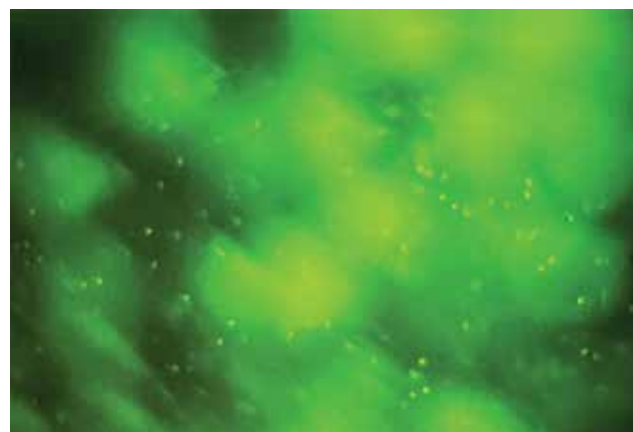


Рис. 7. Ослабление захвата и связывания патогена (*Klebsiella pneumoniae*) вуалеобразными НЭЛ. Периферическое связывание патогена вуалеобразными НЭЛ

Кроме того, что вуалеобразные структуры нейтрофильных внеклеточных образований, сформированные под влиянием IgG, обладают очень слабой способностью к захвату и связыванию патогена, они

еще связывают клетки тестового микроорганизма только на периферии вуалеобразной структуры (см. рис. 7). Такой характер связывания, по-видимому, создает возможность ускользания патогена из-под влияния повреждающих микроорганизмы факторов, продуцирующихся в активированных нейтрофилах.

Необходимо отметить, что подобные вуалеобразные внеклеточные структуры найдены были и у некоторых больных, они также обладали низкой связывающей способностью по отношению к *Klebsiella pneumoniae* и связывали их только на периферии «вуалей».

Результаты исследования функциональной активности НЭЛ в вуалеобразной форме по сравнению с нейтрофильными внеклеточными структурами в морфологической форме нейтрофильных сетей приведены в таблице.

Таблица

Влияние IgG на захват нейтрофильными ловушками микроорганизмов <i>Klebsiella pneumoniae</i> у больных с острыми воспалительными процессами в брюшной полости	
Морфологическая структура НЭЛ и условия инкубации	Количество захваченных нейтрофильными ловушками микроорганизмов, $M \pm m$
Нейтрофильные сети без влияния IgG	$20,2 \pm 1,67$
Вуалеобразные структуры, сформированные под влиянием IgG	$8,46 \pm 0,44^*$

* $p < 0,001$ по сравнению с показателями без влияния IgG.

Помимо ослабления функциональной активности, вуалеобразные формы НЭЛ, по сравнению с НЭЛ в форме нейтрофильных сетей, более подвержены спонтанной ферментативной деградации волокон ДНК, составляющих основу этой морфологической структуры НЭЛ, что включает в себе очевидный риск развития последующих отдаленных осложнений у этих больных. В результате деградации волокон ДНК во внеклеточном пространстве может значительно возрастет содержание внеклеточных пуриновых оснований, которые являются факторами вторичной альтерации. Такой эффект ранее был нами обнаружен и описан у больных с постковидным синдромом. У больных с постковидным синдромом были обнаружены НЭЛ в форме одиночных нитей ДНК значительных размеров. Спонтанная ферментативная деградация этих нитей вызывает увеличение концентрации внеклеточных пуриновых азотистых оснований и является дополнительным фактором тканевого повреждения и ингибирования активности Т-лимфоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования НЭЛ у больных с острым воспалением в брюшной полости позволили выявить зависимость количественных параметров НЭЛ (их численности и размеров) от вида воспаления, размеров и степени отграниченности очага воспаления.

Комплексный анализ НЭЛ, включающий не только количественное определение параметров НЭЛ, но и оценку морфофункциональной трансформации нейтрофильных структур, позволит в полном объеме выявить патофизиологические закономерности воспалительного процесса, послужить ключом к пониманию роли тех или иных форм НЭЛ в борьбе с инфекциями и позволит судить о функциональной активности нейтрофильных экстраклеточных структур.

Функциональная активность НЭЛ, понимаемая как захват и связывание патогена, у здоровых доноров и у больных с острым инфекционным воспалением в брюшной полости имеет некоторые черты сходства, но есть и различия.

Сходство функциональной активности НЭЛ у здоровых доноров и больных людей состоит в том, что контактные взаимодействия патогена и нейтрофилов как здоровых доноров, так и больных людей вызывает формирование НЭЛ в форме нейтрофильных сетей, а затем развивается захват и связывание патогена сформированной нейтрофильной сетью. В ходе этого процесса происходит укорочение волокон ДНК (ретракция), размеры этой нейтрофильной внеклеточной структуры становятся более компактными, а сама нейтрофильная сеть преобразуется в вуалеобразную структуру. Клетки патогена при этом локализованы в центральной части этой вуалеобразной нейтрофильной структуры.

Различия касаются количества клеток патогена, захваченных нейтрофильными внеклеточными структурами в форме вуалей. Вуалеобразные нейтрофильные структуры, происходящие из нейтрофильных сетей здоровых доноров, захватывают и связывают значительное количество клеток тестового патогена, в несколько раз больше, чем подобные вуалеобразные структуры, происходящие из нейтрофильных сетей больных. Часть клеток патогена остается несвязанной при исследовании функциональной активности НЭЛ у больных с воспалительными заболеваниями.

Под влиянием IgG наблюдается морфофункциональная перестройка НЭЛ. Результаты проведенного исследования демонстрируют изменение строения нейтрофильных экстраклеточных ловушек под влиянием IgG. Нейтрофильные сети превращаются

в рыхлые вуалеобразные структуры, которые обладают ослабленной способностью связывать патоген, т. е. приобретают низкую функциональную активность. Особенность функциональной активности IgG-индуцированных НЭЛ – периферическое связывание патогена.

Проведенное исследование демонстрирует вуалеобразные структуры двух видов – «функционально активные вуали», которые образуются из нейтрофильных сетей после захвата патогена, и «неэффективные вуали», которые формируются из нейтрофильных сетей под влиянием IgG. На наш взгляд, эти «неэффективные вуали» несут определенную опасность для организма человека в связи с возможной генерацией факторов вторичной альтерации в виде внеклеточных пуриновых оснований. Содержание этих внеклеточных пуриновых азотистых оснований может существенно увеличиваться в результате спонтанного ферментативного гидролиза ДНК нейтрофильных вуалеобразных структур и индуцировать снижение противоинфекционной резистентности в результате ингибирования активности Т-клеточного звена иммунной системы.

Кроме этого, внеклеточные пуриновые азотистые основания могут вызвать повреждение структур нервной системы и клеток внутренних органов. Их длительное воздействие на организм способно вызывать отдаленные неблагоприятные последствия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С практической точки зрения, проведенное исследование и его результаты создают предпосылки для формирования новых подходов в разработке режимов проведения вакцинации и применения иммунобиологических препаратов, в частности, препаратов моноклональных антител, особенно учитывая тот факт, что в настоящее время отчетливо сформулирован запрос на новые медицинские технологии для повышения эффективности лечения больных.

Недостаток знаний о механизмах сопряжения реакций врожденного иммунитета и адаптивного иммунного ответа в организме человека может существенно ограничивать применение вакцин и препаратов моноклональных антител, а также способствует развитию определенного недоверия у пациентов к данному виду терапии [16]. Описаны случаи тромбоза в сочетании с тромбоцитопенией после вакцинации [17] и прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии, вызванной полиомавирусом, на фоне лечения препаратами моноклональных антител [18].

По мере расширения показаний для использования препаратов моноклональных антител появля-

ются сообщения об осложнениях и даже летальных случаях после применения этих препаратов [19, 20] в связи с развитием полиорганной недостаточности. Причины негативных последствий после терапии препаратами моноклональных антител еще пока недостаточно изучены, но можно предположить с большой долей вероятности, что формирование неэффективных нейтрофильных вуалей может стать механизмом индукции гемокоагуляции и продукции факторов вторичной альтерации в организме пациентов. Поэтому важно соотносить режим вакцинации и лечения иммунобиологическими препаратами с контролем состояния врожденного иммунитета, в частности, с обнаружением в крови пациентов присутствия спонтанных нейтрофильных сетей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Chakraborty S., Tabrizi Z., Bhatt N.N., Franciosa S.A., Bracko O. A brief overview of neutrophils in neurological diseases. *Bio-molecules*. 2023;13(5):743. DOI: 10.3390/biom13050743.
2. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Анти-вирусная система врожденного иммунитета: патогенез и лечение COVID-19. *Вестник РГМУ*. 2020;(5):5–14. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.054.
3. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Рогожина Л.С., Ступин В.А. и др. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки при воспалительных заболеваниях брюшной полости. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024;68(1):15–25. DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.15-25.
4. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ларина В.Н., Ступин В.А. и др. IgG активирует формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек и модифицирует их структуру. *Бюллетень экспериментальной биологии*. 2022;174(12):786–789. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-786-789.
5. Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Кириченко Н.А., Мордык А.В. Способ обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек в суправитально окрашенном препарате крови. Патент RU 2768 152 C1, 2022.03.23. https://yandex.ru/patents/doc/RU2768152C1_20220323.
6. Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Телятникова Л.И. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациента с язвенным колитом. *Доказательная гастроэнтерология*. 2022;11(2):31–38. DOI: 10.17116/dokgastro20221102131.
7. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И. Новые возможности диагностики и исследования патогенеза различных видов воспаления. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2022;66(2):34–42. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.34-42.
8. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э. и др. Противоинфекционная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):56–63. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-1-56-63.

9. Demkow U. Molecular mechanisms of neutrophil extracellular trap (NETs) degradation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(5):4896. DOI: 10.3390/ijms24054896.
10. Farrera C., Fadeel B. macrophage clearance of neutrophil extracellular traps is a silent process. *J. Immunol.* 2013;191:2647–2656. DOI: 10.4049/jimmunol.1300436.
11. Chen L., Zhao Y., Lai D., Zhang P., Yang Y., Li Y. et al. Neutrophil extracellular traps promote macrophage pyroptosis in sepsis. *Cell Death Dis.* 2018;9(6):597. DOI: 10.1038/s41419-018-0538-5.
12. Zhou Y., Xu Z., Liu Z. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:910908. DOI: 10.3389/fcimb.2022.910908.
13. Lauková L., Konečná B., Janovičová E., Vlková B., Celec P. Deoxyribonucleases and their applications in biomedicine. *Biomolecules.* 2020;10:1036. DOI: 10.3390/biom10071036.
14. Nakazawa D., Shida H., Kusunoki Y., Miyoshi A., Nishio S., Tomaru U. et al. The responses of macrophages in interaction with neutrophils that undergo NETosis. *J. Autoimmun.* 2016;67:19–28. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.08.018.
15. Szturmowicz M., Barańska I., Skoczylas A., Jędrych M.E., Demkow U. Correlation of bronchoalveolar lavage lymphocyte count with the extent of lung fibrosis and with plethysmographic lung volumes in patients with newly recognized hypersensitivity pneumonitis. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2020;45(3):276–282. DOI: 10.5114/ceji.2020.101246.
16. Connors J., Cusimano G., Mege N., Woloszczuk K., Konopka E., Bell M. et al. Using the power of innate immunoprofiling to understand vaccine design, infection, and immunity. *Hum. Vaccin Immunother.* 2023;19(3):2267295. DOI: 10.1080/21645515.2023.2267295.
17. De Michele M., Kahan J., Berto I., Schiavo O.G., Iacobucci M., Toni D. et al. Cerebrovascular complications of COVID-19 and COVID-19 vaccination. *Circ. Res.* 2022;130(8):1187–1203. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.122.319954.
18. Sharma K., Tolaymat S., Yu H., Elkhooly M., Jaiswal S., Jena A. et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in anti-CD20 and other monoclonal antibody (mAb) therapies used in multiple sclerosis: A review. *J. Neurol. Sci.* 2022;443:120459. DOI: 10.1016/j.jns.2022.120459.
19. Faccini T., Dhesi Z., Shah S. Death by antibody. *BMJ Case Rep.* 2019;12(5):e225519. DOI: 10.1136/bcr-2018-225519.
20. Kirby C., Herlihy D., Clarke L., Mullan R. Sarcoidosis manifesting during treatment with secukinumab for psoriatic arthritis. *BMJ Case Rep.* 2021;14(2):e240615. DOI: 10.1136/bcr-2020-240615.

Вклад авторов

Казимирский А.Н. – экспериментальные исследования, подготовка иллюстративного материала, написание текста. Салмаси Ж.М. – редактирование статьи. Порядин Г.В. – концепция и дизайн исследования. Панина М.И. – редактирование статьи, статистическая обработка материала. Ким А.Э. – экспериментальные исследования. Рогожина Л.С. – сбор и обработка материала.

Информация об авторах

Казимирский Александр Николаевич – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отдел молекулярных технологий, НИИ трансляционной медицины, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, alnica10@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3079-4089>

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

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

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

Ким Анна Эрнестовна – ассистент, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, infoany@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-772X>

Рогожина Людмила Сергеевна – ассистент, кафедра госпитальной хирургии № 1, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, lusy-090909@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3983-7890>

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

Поступила в редакцию 06.05.2024;
одобрена после рецензирования 23.05.2024;
принята к публикации 13.06.2024



УДК 616.131-008.331.1-005.755-0221.6
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-31-37>

Экспериментальная модель хронической тромбоэмболической легочной гипертензии с применением микроинкапсулированных частиц фибрина

Карпов А.А.^{1,2}, Шиленко Л.А.¹, Ваулина Д.Д.¹, Сидорова Е.Е.¹, Ахметова А.А.¹,
Буненков Н.С.¹, Воротилов А.В.¹, Ивкин Д.Ю.², Карпенко В.В.¹, Галагудза М.М.¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НИИЦ) им. В.А. Алмазова
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

² Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (СПХФУ)
Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14а

РЕЗЮМЕ

Цель. Разработать экспериментальную модель хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (ХТЭЛГ) у крыс с помощью эмболизации сосудистого русла легких микроинкапсулированным фибрином (МФ).

Материалы и методы. Микроинкапсулированный фибрин изготавливался путем заключения в альгинат натрия частиц фибрина размером меньше 71 мкм. В качестве альтернативных эмболизирующих частиц использовался неинкапсулированный фибрин с размером частиц 71–200 мкм. Экспериментальное моделирование проведено на самцах крыс линии Вистар. Животные были разделены на четыре группы. Контроль (КОН) ($n = 7$) – внутривенно вводился физиологический раствор. НФ8 ($n = 14$) – в качестве эмболизирующих частиц вводился неинкапсулированный фибрин 8 раз с интервалами в 4 дня. МФ5 ($n = 14$) – МФ в объеме 0,5 мл ($9\,047 \pm 430$ частиц) вводился внутривенно 5 раз с интервалами в 5 дней. МФ8 ($n = 14$) – МФ вводился 8 раз с интервалами в 4 дня. Через 6 нед после последнего введения эмболизирующих частиц выполнялись катетеризация сердца с манометрией и гистологическое исследование легких.

Результаты. По данным катетеризации сердца, систолическое давление в правом желудочке (СДПЖ) в группе МФ8 было значимо выше по сравнению с крысами из группы КОН и НФ8 ($p < 0,05$). Индекс гипертрофии и процент коллагеновых волокон в структуре сосудистой стенки ветвей легочной артерии были значимо выше в группах МФ5 и МФ8, чем в группах КОН и НФ8 ($p < 0,01$). Значимых различий между группами МФ5 и МФ8 выявлено не было.

Заключение. Разработана репрезентативная модель ХТЭЛГ на крысах, характеризующаяся стабильным повышением СДПЖ и выраженными структурными изменениями ветвей легочной артерии.

Ключевые слова: хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия, тромбоэмболия легочной артерии, экспериментальная модель, крысы, микроинкапсулированный фибрин, альгинат натрия

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 № 23-75-10122, <https://rscf.ru/project/23-75-10122/>

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено биоэтической комиссией СПХФУ (протокол Rats-02.2019-5 от 12.02.2019).

Для цитирования: Карпов А.А., Шиленко Л.А., Ваулина Д.Д., Сидорова Е.Е., Ахметова А.А., Буненков Н.С., Воротилов А.В., Ивкин Д.Ю., Карпенко В.В., Галагудза М.М. Экспериментальная модель хронической тромбоэмболической легочной гипертензии с применением микроинкапсулированных частиц фибрина. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):31–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-31-37>.

✉ Карпов Андрей Александрович, karpov_aa@almazovcentre.ru

A model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension with the use of microencapsulated fibrin particles

Karpov A.A.^{1,2}, Shilenko L.A.¹, Vaulina D.D.¹, Sidorova E.E.¹, Akhmetova A.A.¹, Bunenkov N.S.¹, Vorotilov A.V.¹, Ivkin D.Yu.², Karpenko V.V.¹, Galagudza M.M.¹

¹ Almazov National Medical Research Center

2, Akkuratova Str., Saint Petersburg, 197341, Russian Federation

² Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14a, Professora Popova Str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To develop a model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) in rats by embolization of the pulmonary vascular bed with microencapsulated fibrin (MF).

Materials and methods. Microencapsulated fibrin (MF) was prepared by encapsulating fibrin particles smaller than 71 µm in sodium alginate. Non-encapsulated fibrin with a particle size of 71–200 µm was used as an alternative embolic particle. Modeling was performed on male Wistar rats. The animals were divided into 4 groups. Intact (INT) animals ($n = 7$) were administered normal saline intravenously. In the NF8 group ($n = 14$), non-encapsulated fibrin was injected as embolic particles 8 times every 4 days. In the MF5 group ($n = 14$), 0.5 ml MF ($9,047 \pm 430$ particles) was administered intravenously 5 times every 5 days. In the MF8 group ($n = 14$), MF was administered 8 times every 4 days. Six weeks after the last injection of embolic particles, cardiac catheterization with manometry and histologic examination of the lungs were performed.

Results. According to cardiac catheterization, right ventricular systolic pressure (RVSP) in the MF8 group was significantly higher compared to rats from the INT and NF8 groups ($p < 0.05$). The hypertrophy index and the percentage of collagen fibers in the structure of the vascular wall of the pulmonary artery branches were significantly higher in the MF5 and MF8 groups than in the INT and NF8 groups ($p < 0.01$). There were no significant differences between the MF5 and MF8 groups.

Conclusion. A representative CTEPH model in rats was developed, characterized by a stable increase in RVSP and pronounced structural changes in the branches of the pulmonary artery.

Keywords: chronic thromboembolic pulmonary hypertension, pulmonary embolism, experimental model, rats, microencapsulated fibrin, sodium alginate

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

Source of financing. The research was funded by the Russian Science Foundation grant No. 23-75-10122, <https://rscf.ru/project/23-75-10122/>

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Protocol Rats-02.2019-5 of 12.02.2019).

For citation: Karpov A.A., Shilenko L.A., Vaulina D.D., Sidorova E.E., Akhmetova A.A., Bunenkov N.S., Vorotilov A.V., Ivkin D.Yu., Karpenko V.V., Galagudza M.M. A model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension with the use of microencapsulated fibrin particles. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):31–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-31-37>.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) является осложнением тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) [1]. Эта форма легочной гипертензии характеризуется нарушением лизиса тромбоэмболов, микрососудистым поражением и, как следствие, стабильным повышением дав-

ления в легочной артерии и легочного сосудистого сопротивления [2].

Указанные выше изменения приводят к гипертрофии правого желудочка (ПЖ), что в конечном итоге влечет за собой дилатацию и недостаточность ПЖ. Десятилетняя выживаемость пациентов с ХТЭЛГ, не получающих специфической терапии, при среднем давлении в легочной артерии более 50 мм рт. ст. со-

ставляет 5%, в то время как у пациентов, перенесших ТЭЛА без значимого повышения давления в легочной артерии, выживаемость превышает 50% [3]. Несмотря на активное развитие хирургических и медикаментозных подходов к лечению ХТЭЛГ, эффект от проводимой терапии остается недостаточным [1]. При этом доклиническое исследование новых терапевтических подходов затруднено из-за отсутствия экспериментальной модели, которая способна в достаточной степени отражать патофизиологические и структурные изменения сосудистого русла легких при ХТЭЛГ.

В настоящее время существует два основных подхода к моделированию ХТЭЛГ: использование естественных тромбоемболов и искусственных эмболизирующих частиц [4]. Применение естественных тромбоемболов обычно сочетается с использованием ингибиторов фибринолиза, таких как транексамовая кислота [5–8]. Однако этот подход к моделированию отличается трудоемкостью из-за необходимости изготовления *in vitro* аутологичных тромбоемболов для каждого животного [9]. Кроме того, в связи с выраженной фибринолитической активностью плазмы крови у крыс повышение давления в легочной артерии даже на фоне применения транексамовой кислоты отличается нестабильностью [7]. Однако применение искусственных частиц, в первую очередь полистироловых микросфер, в ранее опубликованных работах характеризовалось стабильным повышением давления в легочной артерии [10–13], но при этом не приводило к полному воспроизведению патогенеза ХТЭЛГ, так как полистироловые микросферы и аналогичные частицы не способны к деградации и не содержат в себе биологически активные молекулы тромба, такие как продукты деградации фибрина (ПДФ) и собственно фибрин.

В ранее проведенном нами исследовании осуществлялось моделирование ХТЭЛГ с помощью частично биodeградируемых микросфер на основе альгината натрия, не содержащих дополнительные включения [14]. В результате продемонстрировано стойкое повышение давления в легочной артерии, снижение толерантности к физической нагрузке, появление гистологических изменений сосудистого русла, характерных для ХТЭЛГ. Однако эта модель не учитывала важную роль ПДФ, которые обладают значительной биологической активностью, в том числе антикоагуляционной и провоспалительной [15]. С учетом этих данных целесообразна разработка модели, сочетающей преимущества естественных тромбоемболов, таких как биологические эффекты самого фибрина и высвобождение ПДФ, и искусственных частиц, обладающих необходимым размером и заданной скоростью биodeградации.

Целью настоящей работы стала разработка экспериментальной модели хронической тромбоэмболической легочной гипертензии у крыс с помощью эмболизации сосудистого русла легких микроинкапсулированным фибрином (МФ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте были использованы 62 самца крыс линии Вистар массой 230 ± 27 г. Все животные содержались в стандартизированных условиях, имели свободный доступ к полнорационному гранулированному корму и воде в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014.

Изготовление эмболизирующих частиц. На первом этапе порошок фибрина из плазмы крови человека (Sigma-Aldrich, США) механически измельчался, просеивался через сито с размером ячейки 71 мкм и смешивался с раствором ультрачистого альгината натрия (Sigma-Aldrich, США) в соотношении 1 : 7. Гомогенизация полученной суспензии проводилась с помощью лабораторного ультразвукового диспергатора погружного типа со штативом (ООО «СпецмашСоник», Россия). Для получения МФ фибрина суспензия подавалась на вход установки Encapsulator B-390 (BUCHI, Швейцария), в качестве стабилизирующего вещества использовался 2%-й раствор хлорида бария. Неинкапсулированный фибрин изготавливался с помощью механического измельчения порошка фибрина и последующего выделения с помощью сит фракции частиц размером 71–200 мкм. Все процедуры проводились в стерильных условиях.

Для моделирования ХТЭЛГ все животные были разделены на четыре группы методом случайных чисел. Контроль (КОН) ($n = 8$) – в хвостовую вену вводилось 1,5 мл физиологического раствора 8 раз с интервалами в 4 дня. МФ8 ($n = 14$) – в качестве эмболизирующих частиц вводился неинкапсулированный фибрин в объеме, эквивалентном группам МФ5 и МФ8, суспензированный в 1,5 мл физиологического раствора, 8 раз с интервалами в 4 дня. МФ5 ($n = 14$) – микроинкапсулированный фибрин в объеме $0,5$ мл ($9\,047 \pm 430$ частиц) вводился в хвостовую вену 5 раз с интервалами в 5 дней. Перед инъекцией раствор хлорида бария полностью удалялся, а МФ суспензировался в 1,5 мл физиологического раствора. МФ8 ($n = 14$) – микроинкапсулированный фибрин в том же объеме вводился в хвостовую вену 8 раз с интервалами в 4 дня. Через 6 нед после последнего введения эмболизирующих частиц проводилось измерение систолического давления в правом желудочке (СДПЖ) и гистологическое исследование легких с определением процента коллагеновых

волокон в структуре сосудистой стенки ветвей легочной артерии и индекса гипертрофии.

Исследование биодеградации *in vivo* эмболизирующих частиц. В отдельной экспериментальной серии крысам моделировалась ХТЭЛГ по протоколам НФ8 ($n = 6$) и МФ8 ($n = 6$) для определения скорости биодеградации эмболизирующих частиц в разные временные промежутки. Для оценки динамики биодеградации эмболизирующих частиц в 1-й день, а также через 2, 4, 6 нед после заключительного введения животные были эвтаназированы с помощью передозировки изофлурана. Выполнялось гистологическое исследование нижней доли правого легкого. В каждой временной точке с помощью светового микроскопа Eclipse Ni-U (Nikon, Япония) и программного обеспечения Nis Elements Br4 (Nikon, Япония) проводился подсчет эмболизирующих частиц в просвете ветвей легочной артерии на всем поперечном срезе дистальной трети доли легкого.

Инвазивное измерение гемодинамики. Для наркотизации крыс использовался изофлуран, ингалируемый с помощью установки SomnoSuite Low-Flow Anesthesia System (Kent Scientific, Torrington, CT, США). Животные располагались на термостабируемом столике TCAT-2LV Animal Temperature Controller (Physitemp Instruments Inc., США). Искусственная вентиляция легких проводилась с помощью аппарата SAR-830/AP (CWE Inc., США). Для измерения СДПЖ производилась пункция верхушки сердца. Регистрация давления осуществлялась с помощью монитора Mindray ePM 10 (Mindray, Китай).

Гистологическое исследование. Эвтаназия животных проводилась с помощью передозировки изофлурановым наркозом. Для гистологического исследования использовалась нижняя доля правого легкого, которая разделялась на четыре равных поперечных уровня. Для идентификации коллагеновых волокон

применялось окрашивание микропрепаратов по методу Пикро Маллори («БиоВитрум», Россия). Количественный анализ проводился в двух дистальных срезах легкого с помощью микроскопа Eclipse Ni-U (Nikon, Япония) при увеличении от 10 до 40, а также программного обеспечения Nis Elements Br4 (Nikon, Япония) и ImageJ (Wayne Rasband, США). Для всех найденных сосудов, относящихся к ветвям легочной артерии, был определен процент коллагеновых волокон в структуре сосудистой стенки [16], а также индекс гипертрофии, рассчитанный как отношение площади сосудистой стенки к площади всего сосуда в процентах [17].

Анализ данных выполнялся с помощью программного обеспечения R 4.2.2. Для оценки статистически значимой разницы между группами использовался критерий Ньюмена – Кейлса. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики эмболизирующих частиц. Размер МФ составил 205 ± 38 мкм (рис. 1, а), частицы неинкапсулированного фибрина после суспензирования в физиологическом растворе и обработки ультразвуковым диспергатором имели диаметр 155 ± 60 мкм.

По результатам исследования биодеградации эмболизирующих частиц выявлено последовательное снижение количества выявляемых частиц микроинкапсулированного фибрина. К моменту завершения моделирования ХТЭЛГ количество этих частиц составило 6% от исходного. При оценке биодеградации неинкапсулированного фибрина через 2 нед выявлялось всего 2% частиц, на последующих точках эмболизирующие частицы не выявлялись (рис. 1, б).

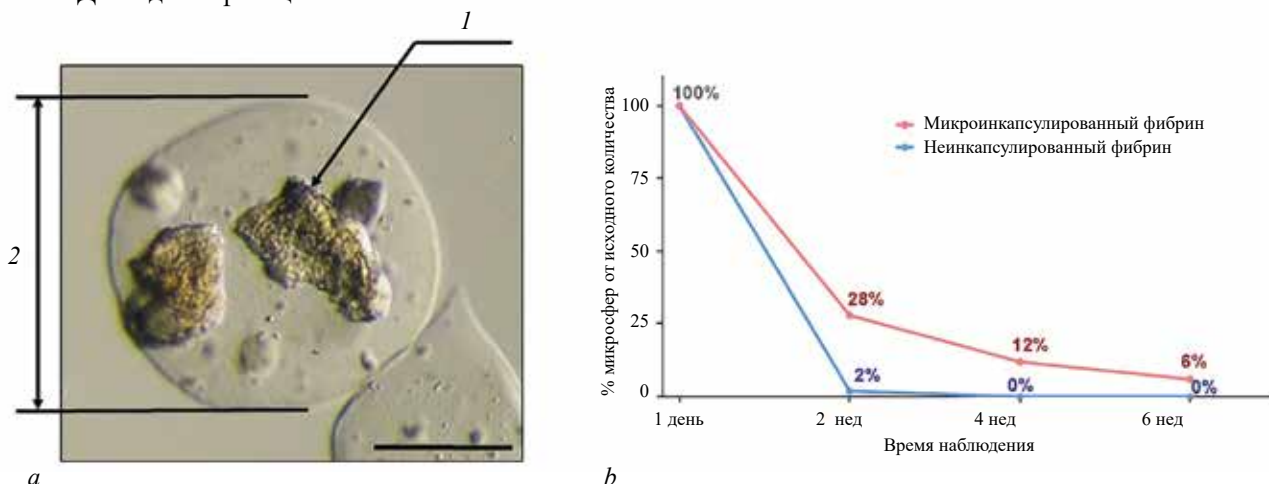


Рис. 1. Эмболизирующие частицы: а – репрезентативная микрофотография МФ (bar = 100 мкм), 1 – частицы фибрина, 2 – микрокапсула, заключающая в себя фибрин; б – биодеградация эмболизирующих частиц в сосудистом русле

Во время введения эмболизирующих частиц смертность животных в основной серии экспериментов составила: НФ8 – 4, МФ5 – 2, МФ8 – 4. Гибель животных была обусловлена развитием острой правожелудочковой сердечной недостаточности или парадоксальной эмболии с острым нарушением мозгового кровообращения.

По данным катетеризации сердца, СДПЖ в группе МФ8 было значимо выше по сравнению с крысами из

групп КОН и НФ8 ($p < 0,05$). Между крысами из групп КОН, НФ8 и МФ5 не было выявлено значимых отличий в уровне СДПЖ (рис. 2). По результатам гистологического исследования индекс гипертрофии и процент коллагеновых волокон в структуре сосудистой стенки в группах МФ5 и МФ8 были значимо выше, чем в группах КОН и применения неинкапсулированного фибрина ($p < 0,01$). Значимых различий между группами МФ5 и МФ8 выявлено не было (рис. 3).

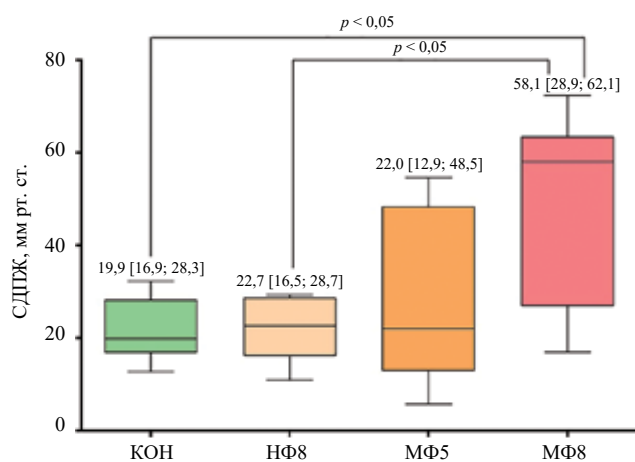


Рис. 2. Систолическое давление в правом желудочке через 6 нед после последнего введения эмболизирующих частиц по данным катетеризации сердца

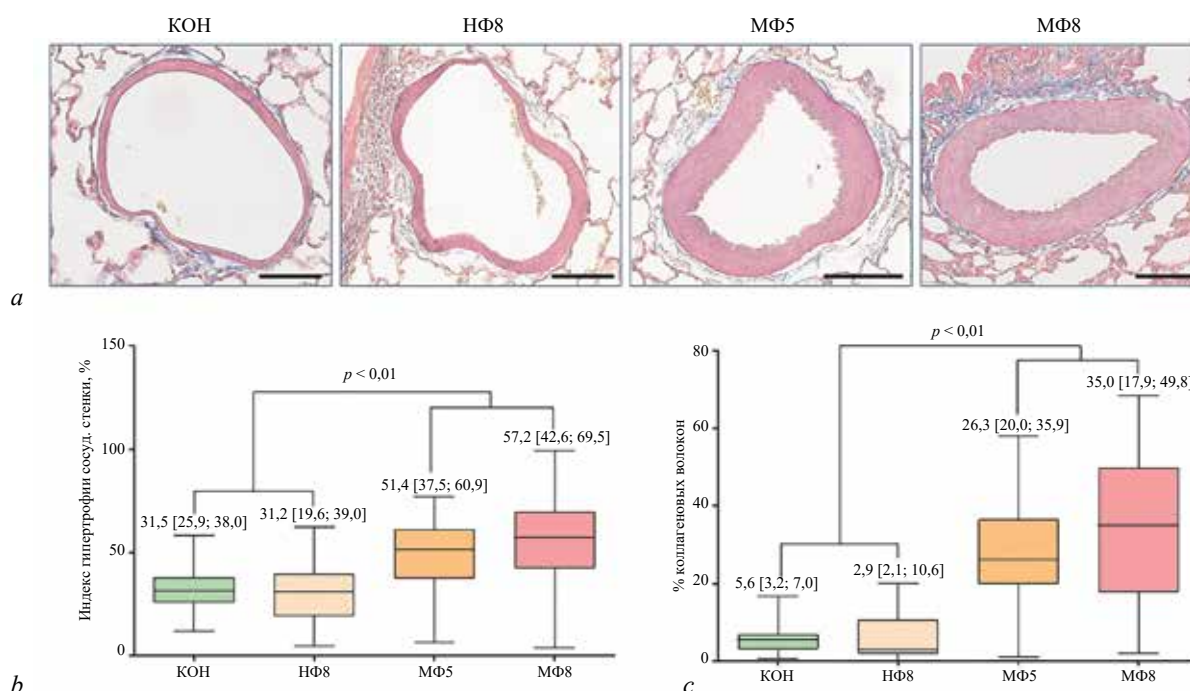


Рис. 3. Результаты гистологического исследования ветвей легочной артерии: а – репрезентативные микрофотографии (bar = 100 мкм); б – индекс гипертрофии сосудистой стенки; в – коллагеновые волокна в структуре сосудистой стенки, %

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенной работы была создана новая экспериментальная модель ХТЭЛГ, характеризующаяся стабильным повышением давления

в ПЖ и значительным ремоделированием сосудов малого круга кровообращения. Указанный результат достигался с помощью многократного внутривенного введения МФ, который, как было показано в работах [18, 19], способен стимулировать

миграцию лейкоцитов напрямую, являясь хемоаттрактантом, и через усиление секреции цитокинов лейкоцитами и эндотелиальными клетками. Применение этого типа эмболизирующих частиц позволило сочетать преимущества как естественных тромбоэмболов – частичная биodeградация и высвобождение биологически активных веществ (фибрин и ПДФ), так и искусственных – управляемая скорость биodeградации частиц и удобное дозирование. Кроме того, в отличие от аутологических тромбов, применение фибрина позволило значительно снизить трудозатраты для производства тромбоэмболов.

При моделировании ХТЭЛГ в настоящей работе именно группа МФ8 характеризовалась стойким повышением СДПЖ. В группе МФ5 дозы вводимых эмболизирующих частиц было недостаточно для воспроизведения стабильной легочной гипертензии. По данным гистологического исследования, значимое повышение индекса гипертрофии сосудистой стенки и процента фиброза в ее структуре отмечалось в обеих группах применения МФ и значимо не различалось между ними. Применение неинкапсулированного фибрина не приводило к значимым изменениям как в уровне СДПЖ, так и в показателях ремоделирования ветвей легочной артерии.

Схожие результаты были достигнуты в нашей прошлой работе, где в качестве эмболизирующих частиц были использованы микроинкапсулированные аутологичные тромбы [9], однако указанная модель характеризовалась значительной трудоемкостью, что затрудняло ее практическое применение. Кроме того, в отличие от ранее опубликованных работ с искусственными частицами на основе полистирола [10–13], разработанные эмболизирующие частицы были способны к частичной и управляемой биodeградации и выделению биологически активных веществ. Эти свойства способствовали большей патофизиологической точности представленной модели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная модель может быть использована как для изучения патогенеза ХТЭЛГ, так и для тестирования новых терапевтических подходов для лечения этого заболевания. В перспективе планируется проведение сравнительного исследования пустых альгинатных микросфер с микроинкапсулированным фибрином для наиболее наглядной демонстрации роли биологически активных веществ, высвобождаемых в процессе биodeградации тромбоэмбола при формировании ХТЭЛГ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C., Bueno H., Geersing G.J., Harjola V.P. et al. 2019 ESC guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur. Heart J.* 2020;41(4):543–603. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz405.
2. Simonneau G., Dorfmüller P., Guignabert C., Mercier O., Humbert M. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: the magic of pathophysiology. *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2022;11(2):106–119. DOI: 10.21037/acs-2021-pte-10.
3. Riedel M., Stanek V., Widimsky J., Prerovsky I. Longterm follow-up of patients with pulmonary thromboembolism. Late prognosis and evolution of hemodynamic and respiratory data. *Chest.* 1982;81(2):151–158. DOI: 10.1378/chest.81.2.151.
4. Karpov A.A., Vaulina D.D., Smirnov S.S., Moiseeva O.M., Galagudza M.M. Rodent models of pulmonary embolism and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Heliyon.* 2022;8(3):e09014. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e09014.
5. Deng C., Wu D., Yang M., Chen Y., Wang C., Zhong Z. et al. Expression of tissue factor and forkhead box transcription factor O-1 in a rat model for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2016;42(4):520–528. DOI: 10.1007/s11239-016-1413-9.
6. Deng C., Zhong Z., Wu D., Chen Y., Lian N., Ding H. et al. Role of FoxO1 and apoptosis in pulmonary vascular remodeling in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Sci. Rep.* 2017;7(1):2270. DOI: 10.1038/s41598-017-02007-5.
7. Runyon M.S., Gellar M.A., Sanapareddy N., Kline J.A., Watts J.A. Development and comparison of a minimally-invasive model of autologous clot pulmonary embolism in Sprague-Dawley and Copenhagen rats. *Thromb. J.* 2010;8:3. DOI: 10.1186/1477-9560-8-3.
8. Wu D., Chen Y., Wang W., Li H., Yang M., Ding H. et al. The role of inflammation in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension induced by carrageenan. *Ann. Transl. Med.* 2020;8(7):492. DOI: 10.21037/atm.2020.02.86.
9. Karpov A.A., Mihailova A.M., Cherepanov D.E., Chefu S.G., Shilenko L.A., Vaulina D.D. et al. The use of microencapsulated autologous thrombi for modelling chronic thromboembolic pulmonary hypertension in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2023;175(5):616–619. DOI: 10.1007/s10517-023-05912-0.
10. Zagorski J., Neto-Neves E., Alves N.J., Fisher A.J., Kline J.A. Modulation of soluble guanylate cyclase ameliorates pulmonary hypertension in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension by stimulating angiogenesis. *Physiol. Rep.* 2022;10(1):e15156. DOI: 10.14814/phy2.15156.
11. Toba M., Nagaoka T., Morio Y., Sato K., Uchida K., Homma N. et al. Involvement of Rho kinase in the pathogenesis of acute pulmonary embolism-induced polystyrene microspheres in rats. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2010;298(3):L297–303. DOI: 10.1152/ajplung.90237.2008.
12. Watts J.A., Marchick M.R., Gellar M.A., Kline J.A. Up-regulation of arginase II contributes to pulmonary vascular endothelial cell dysfunction during experimental pulmonary em-

- bolism. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2011;24(4):407–413. DOI: 10.1016/j.pupt.2011.01.009.
13. Arias-Loza P.A., Jung P., Abeßer M., Umbenhauer S., Williams T., Frantz S. et al. Development and characterization of an inducible rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Hypertension*. 2016;67(5):1000–1005. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07247.
 14. Karpov A.A., Anikin N.A., Mihailova A.M., Smirnov S.S., Vaulina D.D., Shilenko L.A. et al. Model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension in rats caused by repeated intravenous administration of partially biodegradable sodium alginate microspheres. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(3):1149. DOI: 10.3390/ijms22031149.
 15. Jennewein C., Tran N., Paulus P., Ellinghaus P., Eble J.A., Zacharowski K. Novel aspects of fibrin(ogen) fragments during inflammation. *Mol. Med.* 2011;17(5-6):568–573. DOI: 10.2119/molmed.2010.00146.
 16. Ippolito C., Colucci R., Segnani C., Errede M., Girolamo F., Virgintino D. et al. Fibrotic and vascular remodelling of colonic wall in patients with active ulcerative colitis. *J. Crohns Colitis*. 2016;10(10):1194–1204. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjw076.
 17. Kitagawa M.G., Reynolds J.O., Wehrens X.H.T., Bryan R.M. Jr., Pandit L.M. Hemodynamic and pathologic characterization of the TASK-1^{-/-} mouse does not demonstrate pulmonary hypertension. *Front. Med. (Lausanne)*. 2017;4:177. DOI: 10.3389/fmed.2017.00177.
 18. Barnhart M.I., Riddle J.M., Bluhm G.B., Quintana C. Fibrin promotion and lysis in arthritic joints. *Ann. Rheum. Dis.* 1967;26(3):206–218. DOI: 10.1136/ard.26.3.206.
 19. Colvin R.B., Johnson R.A., Mihm M.C. Jr., Dvorak H.F. Role of the clotting system in cell-mediated hypersensitivity. I. Fibrin deposition in delayed skin reactions in man. *J. Exp. Med.* 1973 138(3):686–698. DOI: 10.1084/jem.138.3.686.

Вклад авторов

Карпов А.А. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание рукописи. Шиленко Л.А. – разработка концепции и дизайна исследования, изготовление эмболизирующих частиц, инвазивное измерение гемодинамики, написание рукописи. Ваулина Д.Д. – изготовление эмболизирующих частиц, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Сидорова Е.Е., Ахметова А.А., Карпенко В.В. – внутривенное введение эмболизирующих частиц, гистологическое исследование, анализ и интерпретация данных. Буненков Н.С. – анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Воротилов А.В. – изготовление эмболизирующих частиц, инвазивное измерение гемодинамики. Ивкин Д.Ю. – проверка критически важного интеллектуального содержания, написание рукописи. Галагудза М.М. – руководитель проекта; разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Карпов Андрей Александрович – канд. мед. наук, зав. НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова; ст. науч. сотрудник, Центр экспериментальной фармакологии, СПХФУ, г. Санкт-Петербург, karpov_aa@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0114-5896>

Шиленко Леонид Алексеевич – ординатор 1-го года обучения, кафедра факультетской терапии с клиникой, лаборант-исследователь, НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, Shilenko.leo@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1002-9419>

Ваулина Дария Дмитриевна – мл. науч. сотрудник, НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, uplavice@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1088-2396>

Сидорова Елизавета Евгеньевна – студентка, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, sidorova.elev@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-6878-3764>

Ахметова Анна Аскаровна – студентка, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, ahmetova.anna.askarovna@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-0317-7241>

Буненков Николай Сергеевич – канд. мед. наук, лаборант-исследователь, НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, bunenkov_ns@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4331-028X>

Воротилов Александр Владимирович – лаборант-исследователь, НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, allegoriarus@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2772-6579>

Ивкин Дмитрий Юрьевич – канд. биол. наук, директор Центра экспериментальной фармакологии, СПХФУ, г. Санкт-Петербург, dmitry.ivkin@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>

Карпенко Владислава Валерьевна – лаборант-исследователь, НИЛ патологии малого круга кровообращения, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, vladislavavk26@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0003-2207-1918>

Галагудза Михаил Михайлович – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор Института экспериментальной медицины, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, galagudza@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5129-9944>

(✉) **Карпов Андрей Александрович**, karpov_aa@almazovcentre.ru

Поступила в редакцию 11.05.2024;
одобрена после рецензирования 01.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616.12-008.46-36.12-06:616.24-005.3-07
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-38-46>

Оценка наличия и динамики легочного застоя по данным ультразвукового и дистанционного диэлектрического исследования (ReDS) у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности

Кобалава Ж.Д.¹, Сафарова А.Ф.^{1,2}, Толкачева В.В.¹, Зоря О.Т.¹, Кабельо Монтойа Ф.Э.¹, Назаров И.С.¹, Лапшин А.А.^{1,2}, Смирнов И.П.¹, Хуцишвили Н.И.¹, Галочкин С.А.^{1,2}, Вацик-Городецкая М.В.²

¹ Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

² Городская клиническая больница (ГКБ) им. В.В. Виноградова
Россия, 117292, г. Москва, ул. Вавилова, 61

РЕЗЮМЕ

Цель: провести сравнительную оценку наличия и динамики легочного застоя по данным ультразвукового (УЗИ) и дистанционного диэлектрического (ReDS) исследования у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ХСН).

Материалы и методы. В пилотное одноцентровое исследование включались пациенты, госпитализированные с декомпенсацией ХСН. В течение 24 ч от момента госпитализации и при выписке одновременно проводились УЗИ легких и исследование с применением технологии ReDS. Ультразвуковое исследование легких выполнялось по протоколу с оценкой восьми зон и подсчетом суммы В-линий. Легочный застой подтверждался при сумме В-линий ≥ 5 . Исследование ReDS выполнялось по протоколу производителя, застой подтверждался при получении значения более 35%. Для определения межоператорской вариабельности ReDS каждому пациенту исследование проводили два заслепленных оператора с интервалом 20–30 мин независимо друг от друга.

Результаты. В исследование были включены 35 пациентов: 40% ($n = 14$) мужчин, средний возраст 71 (65,5; 78,5) год, медиана NT-proBNP составила 1 379 (470; 4 277) пг/л. Гидроторакс при поступлении наблюдался у 31,4% ($n = 11$) пациентов. Частота легочного застоя, по данным УЗИ, составила 57,1% ($n = 20$), из них легкая степень застоя наблюдалась у 31,4% ($n = 11$), средняя – у 22,9% ($n = 8$), тяжелая – у 2,9% ($n = 1$) пациентов. Легочный застой, по данным ReDS, наблюдался у 62,9% ($n = 22$), из них легкий у 37,1% ($n = 13$), средний у 22,9% ($n = 8$), тяжелый у 2,9% ($n = 1$). Выявлена умеренная корреляционная связь между показателями ReDS (%) и УЗИ легких (сумма В-линий) при поступлении ($r = 0,402$; $p = 0,017$). При выписке корреляционной взаимосвязи между двумя методами выявлено не было ($p = 0,613$). Частота согласия по наличию или отсутствию признаков застоя, по данным обоих методов, на момент поступления составила 77,1% ($p = 0,004$) со средним значением коэффициента согласия каппа Коэна ($\kappa = 0,53$). Наблюдалась средняя межоператорская вариабельность для исследования ReDS (коэффициент вариабельности 9,9%).

Заключение. Отмечена умеренная корреляционная связь между показателями ReDS (%) и УЗИ легких (сумма В-линий) в отношении выявления легочного застоя при поступлении ($r = 0,402$; $p = 0,017$). При выписке корреляционной взаимосвязи между двумя методами выявлено не было ($p = 0,613$).

Ключевые слова: сердечная недостаточность, легочный застой, УЗИ легких, дистанционное диэлектрическое исследование (ReDS)

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РУДН.

Для цитирования: Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Толкачева В.В., Зоря О.Т., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Лапшин А.А., Смирнов И.П., Хуцишвили Н.И., Галочкин С.А., Вацик-Городецкая М.В. Оценка наличия и динамики легочного застоя по данным ультразвукового и дистанционного диэлектрического исследования (REDS) у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):38–46. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-38-46>.

Assessing pulmonary congestion in patients hospitalized with decompensated chronic heart failure according to lung ultrasound and remote dielectric sensing (ReDS)

Kobalava Zh.D.¹, Safarova A.F.^{1,2}, Tolkacheva V.V.¹, Zorya O.T.¹, Cabello Montoya F.E.¹, Nazarov I.S.¹, Lapshin A.A.^{1,2}, Smirnov I.P.¹, Khutsishvili N.I.¹, Galochkin S.A.^{1,2}, Vatsik-Gorodetskaya M.V.²

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

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

ABSTRACT

Aim. To conduct a comparative assessment of parameters and dynamics of pulmonary congestion according to lung ultrasound and remote dielectric sensing (ReDS) in patients hospitalized with decompensated chronic heart failure (CHF)

Materials and methods. The pilot single-center study included patients hospitalized with decompensated CHF. Lung ultrasound and ReDS were simultaneously performed within 24 hours from the moment of hospitalization and at discharge. Eight-zone lung ultrasound was performed with the calculation of the sum of B-lines. Pulmonary congestion was confirmed with the sum of B-lines ≥ 5 . ReDS was performed according to the manufacturer's protocol. Congestion was confirmed at the value of more than 35%. To determine ReDS interoperator variability, each patient was examined by two operators who were blind to each other's findings with a 20–30-minute interval.

Results. Thirty-five patients were included in the study: 40% ($n = 14$) men, the average age was 71 (65.5; 78.5) years, the median NT-proBNP was 1,379 (470; 4,277) pg / l. Hydrothorax at admission was observed in 31.4% ($n = 11$) of patients. The incidence of pulmonary congestion according to lung ultrasound was 57.1% ($n = 20$); 31.4% ($n = 11$) of patients had mild congestion, 22.9% ($n = 8$) – moderate, and 2.9% ($n = 1$) – severe congestion. ReDS data revealed pulmonary congestion in 62.9% ($n = 22$) of cases, of which 37.1% ($n = 13$) of cases were characterized by mild, 22.9% ($n = 8$) – by moderate, and 2.9% ($n = 1$) – by severe congestion. A moderate correlation was found between ReDS (%) and lung ultrasound (sum of B-lines) findings at admission (Spearman's rank correlation coefficient = 0.402; $p = 0.017$). No correlation between the two methods was found at discharge ($p = 0.613$). The frequency of agreement between lung ultrasound and ReDS on signs of congestion at admission was 77.1% ($p = 0.004$) with an average Cohen's Kappa coefficient ($\kappa = 0.53$). The average interoperator variability in ReDS was 9.9%.

Conclusion. A moderate correlation was revealed between ReDS (%) and lung ultrasound (sum of B-lines) in detecting pulmonary congestion (Spearman's rank correlation coefficient = 0.402; $p = 0.017$). No correlation between the two methods was found at discharge ($p = 0.613$).

Keywords: heart failure, pulmonary congestion, lung ultrasound, remote dielectric sensing (ReDS)

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at RUDN University.

For citation: Kobalava Zh.D., Safarova A.F., Tolkacheva V.V., Zorya O.T., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Lapshin A.A., Smirnov I.P., Khutsishvili N.I., Galochkin S.A., Vatsik-Gorodetskaya M.V. Assessing pulmonary congestion in patients hospitalized with decompensated chronic heart failure according to lung ultrasound and remote dielectric sensing (ReDS). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):38–46. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-38-46>.

ВВЕДЕНИЕ

Определение статуса гидратации, в том числе количественная оценка тяжести застоя, является одной из актуальных задач в аспекте лечения декомпенсации сердечной недостаточности как в госпитальных, так и в амбулаторных условиях. Гемодинамическая перегрузка, а впоследствии и венозный застой являются звеньями патофизиологических реакций, включенных в формирования данного состояния.

Выписка из стационара до полного разрешения застоя увеличивает риск смерти и повторных госпитализаций [1–3]. Кроме того, у пациентов при выписке может наблюдаться субклинический застой, который выявляется только лабораторно-инструментальными методами, а клинические проявления могут развиваться еще до окончания первой недели наблюдения за пациентом в амбулаторных условиях [2, 3].

Более 90% госпитализаций, связанных с сердечной недостаточностью (СН), происходят из-за наличия легочного застоя (CHAMPION trial) [4]. Ранее выявление легочного застоя является крайне важным, так как позволяет вовремя предотвратить развитие эпизода декомпенсации, вовремя скорректировать лечение и улучшить прогноз.

В настоящее время в качестве инструментальных методов для выявления застойных явлений в легких, согласно действующим европейским рекомендациям, у пациентов с острой СН рекомендованы рентгенография грудной клетки и ультразвуковое исследование (УЗИ) легких [5, 6].

По данным ранее опубликованных работ, включая рандомизированные клинические исследования и крупные зарубежные регистры, УЗИ легких продемонстрировало значительно более высокую чувствительность и специфичность (диагностическую ценность) в выявлении легочного застоя, а также обладало независимой прогностической ценностью [7–9]. Однако ввиду ограничений методов сохраня-

ется актуальность поиска новых способов оценки степени застоя.

Относительно недавно была предложена неинвазивная технология ReDS (Remote Dielectric Sensing), позволяющая количественно оценить суммарный объем жидкости в легких путем определения диэлектрических свойств ткани. В результате измерения оператор быстро и безопасно получает числовое значение, соответствующее проценту жидкости в легочной ткани. По данным метаанализа, включившем работы, опубликованные с 2017 по 2021 г. с анализом выборки из 985 пациентов, ведение пациентов с использованием технологии ReDS снижало частоту повторной госпитализации по поводу сердечной недостаточности [10]. Однако работы по сравнительной оценке метода УЗИ легких и дистанционного диэлектрического (ReDS) исследования у пациентов с СН единичны [11], а с участием российской популяции пациентов отсутствуют.

Таким образом, целью данного исследования была сравнительная оценка наличия легочного застоя по данным УЗИ и дистанционного диэлектрического (ReDS) исследования у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией СН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 35 пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточностью (ХСН), вне зависимости от фракции выброса левого желудочка, в отделение реанимации и интенсивной терапии для кардиобольных ГКБ им. В.В. Виноградова, г. Москва. Острая декомпенсированная сердечная недостаточность была диагностирована на основании действующих клинических рекомендаций [12, 13]. В исследование не включали больных с тяжелыми заболеваниями печени, иммобилизацией, терминальными соматическими и злокачественными заболеваниями, острым коронарным синдромом, отеком

синдромом иной этиологии, наличием электрокардиостимулятора, выраженной деформацией грудной клетки, острыми инфекционными заболеваниями (в том числе пневмонией и COVID-19).

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом РУДН. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации.

Всем пациентам, включенным в исследование, при госпитализации и выписке проводили стандартное физическое, лабораторное и инструментальное обследование, в которое включали УЗИ легких, определение NT-proBNP, исследование с применением технологии ReDS, фиброзластометрию печени, биоимпедансный анализ состава тела, оценку венозного застоя по протоколу VEXUS. Дизайн исследования представлен на рис. 1. Характеристика и основные лабораторно-инструментальные показатели пациентов приведены в таблице.

Одноцентровое проспективное исследование
Включено 35 процентов

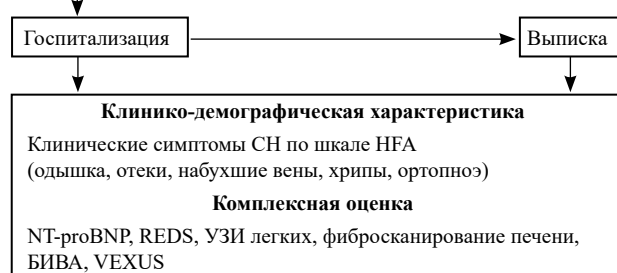


Рис. 1. Дизайн исследования

Таблица

Клинико-демографическая характеристика и лабораторно-инструментальные показатели пациентов, включенных в исследование, $n = 35$

Показатель	Значение
<i>Клинико-демографическая характеристика</i>	
Пол (м/ж), n (%)	14 (40%)/ 21 (60%)
Возраст, годы, Me (IQR)	71 [65,5; 78,5]
ИМТ, кг/м ² , Me (IQR)	34,5 [27,0; 38,6]
Курение, n (%)	8 (22,9%)
ФВ ЛЖ, %, Me (IQR)	52 [40; 55]
Артериальная гипертензия, n (%)	34 (97,2%)
ОНМК в анамнезе, n (%)	5 (14,3%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	14 (40,0%)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	6 (17,2%)
Фибрилляция/трепетание предсердий, n (%)	22 (62,9%)
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)	9 (25,7%)
Хроническая болезнь почек, n (%)	22 (62,9%)
ХОБЛ/БА, n (%)	5 (14,3%)

Окончание табл.

Показатель	Значение
САД, мм рт. ст., Me (IQR)	133 [120,5; 146]
ДАД, мм рт. ст., Me (IQR)	80 [70; 84,5]
ЧСС, мин, Me (IQR)	85 [74; 120]

Лабораторно-инструментальная характеристика при госпитализации

Плотность печени, кПа, Me (IQR)	13 [6; 21]
Сумма В-линий при УЗИ легких, Me (IQR)	8 [4; 16]
БИВА, активное сопротивление, Ом/м, $M \pm SD$	394 $\pm$ 99
БИВА, реактивное сопротивление, Ом/м, Me (IQR)	38 [31; 45]
Размер нижней полой вены, мм, $M \pm SD$	22 $\pm$ 5
Степень застоя (GRADE) по VExUS, n (%)	GRADE 0: 14 (40%) GRADE 1: 3 (8,6%) GRADE 2: 6 (17,1%) GRADE 3: 12 (34,3%)
NT-proBNP, пг/мл, Me (IQR)	1379 (470; 4277)
Исследование ReDS, $M \pm SD$	37 $\pm$ 6

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, БИВА – биоимпедансный векторный анализ.

Ультразвуковое исследование легких для выявления и оценки тяжести застоя выполнялось по протоколу с подсчетом количества В-линий в восьми зонах по передней и боковым поверхностям грудной клетки на аппарате VIVID iq, GE. При сумме В-линий 6–15 застой расценивали как легкий, 16–30 – умеренный, более 30 – тяжелый.

Технология ReDS основана на определении диэлектрического коэффициента ткани. Электромагнитное излучение малой мощности проходит через ткани от излучателя к приемнику. Поскольку вода обладает очень высоким диэлектрическим коэффициентом и диэлектрические коэффициенты тканей определяются преимущественно содержащейся в ней жидкостью, оценка изменения параметров радиоволн обеспечивает возможность точного измерения совокупного объема жидкости в ткани. Таким образом, система ReDS вычисляет объемное соотношение жидкости к воздуху и показывает процентное содержание легочной жидкости [10, 11, 14].

Исследование проводилось по протоколу производителя. Пациенту устанавливали датчик с правой стороны грудной клетки в положении сидя, само измерение длилось 45 с (рис. 2). Рекомендуемый производителем диапазон нормальных значений 20–35%. Если значения показателя составляли >35%, то

считалось, что у больного имеется легочный застой. Тяжесть застоя определялась следующим образом: 36–40% – 1-я степень (повышенное содержание жидкости в легких), 41–50% – 2-я степень (высокое содержание жидкости в легких), более 50% – 3-я степень (экстремально высокое содержание жидкости в легких).



Рис. 2. Дистанционное диэлектрическое исследование (ReDS). Прибор состоит из системы двух датчиков (передний и задний), вычислительного блока и монитора

Исследование ReDS каждому пациенту проводили два разных заслепленных оператора с интервалом 20–30 мин независимо друг от друга для определения межоператорской вариабельности метода.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение MedCalc Software's VAT Version 19.0 и IBM SPSS Statistics (v. 26.0). Количественные переменные описывали как среднее арифметическое значение (M) и стандартное отклонение среднего значения (SD) (при нормальном распределении) или как медиану межквартильного интервала Me (IQR) (при асимметричном распределении). Характер распределения данных определяли по критерию Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении данных статистическую значимость различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для связанных и несвязанных выборок. При распределении данных, отличным от нормального, достоверность различий анализировали с помощью критерия Манна – Уитни для несвязанных выборок и критерия Вилкоксона для связанных выборок. Статистически значимыми считались различия при значении $p < 0,05$ (с учетом поправки Бонферрони). Направление и сила корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличным от нормального).

Межоператорская вариабельность для качественных параметров оценивалась с помощью коэффициента согласия, или каппа (κ) Коэна, и рассчитывалась по формуле: $\kappa = (p_o - p_e) / (1 - p_e)$, где p_o – это относительное наблюдаемое согласие между операторами, p_e – гипотетическая вероятность случайного соглашения (при полном согласии $\kappa = 1$, а при отсутствии согласия $\kappa = 0$), при этом: $\kappa = 0–0,2$ – низкий уровень согласия; $\kappa = 0,21–0,4$ – удовлетворительный уровень; $\kappa = 0,41–0,6$ – средний уровень; $\kappa = 0,61–0,8$ – высокий уровень согласия; $\kappa = 0,81–1$ – практически полное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Застой в легких при поступлении, по данным ReDS, диагностирован у 62,9% ($n = 22$) пациентов, из них легкий у 37,1% ($n = 13$), умеренный у 22,9% ($n = 8$), тяжелый у 2,9% ($n = 1$), при выписке выявлен у 44% ($n = 15$) пациентов. Застой в легких при поступлении, по данным УЗИ, был выявлен у 57,2% ($n = 20$), из них легкая степень – у 31,4% ($n = 11$), умеренная – у 22,9% ($n = 8$), тяжелая – у 2,9% ($n = 1$), при выписке выявлен у 16% ($n = 5$) (рис. 3). Гидроторакс при поступлении наблюдался у 31,4% ($n = 11$) пациентов.

Выявлена умеренная корреляционная связь между показателями ReDS (%) и УЗИ легких (сумма В-линий) при поступлении ($r = 0,402$; $p = 0,017$). При выписке корреляционной взаимосвязи между двумя методами выявлено не было ($p = 0,613$) (рис. 4).

Частота согласия по наличию или отсутствию признаков застоя по данным обоих методов при поступлении составила 77,1% ($p = 0,004$) с умеренным значением коэффициента согласия каппа Коэна ($\kappa = 0,53$). При выписке частота согласия между методами составила 41,7% ($p = 0,223$), а коэффициент согласия был отрицательным. При учете гидроторакса как признака застоя в дополнение к учету В-линий на УЗИ легких при поступлении согласие между методами составило 71,4% ($p = 0,033$), а коэффициент согласия $\kappa = 0,388$. При выписке учет гидроторакса не вносил изменений в частоту согласия между двумя методами в выявлении застоя.

Была выявлена средняя межоператорская вариабельность для исследования ReDS (коэффициент вариабельности 9,9%). При этом вариабельность между операторами на момент госпитализации пациентов составила 12,7% для ReDS при поступлении, 6,6% при выписке. Для ReDS коэффициент согласия для исследования ReDS между операторами по выявлению застоя составил $\kappa = 0,82$ (0,908 при поступлении и 0,657 при выписке).

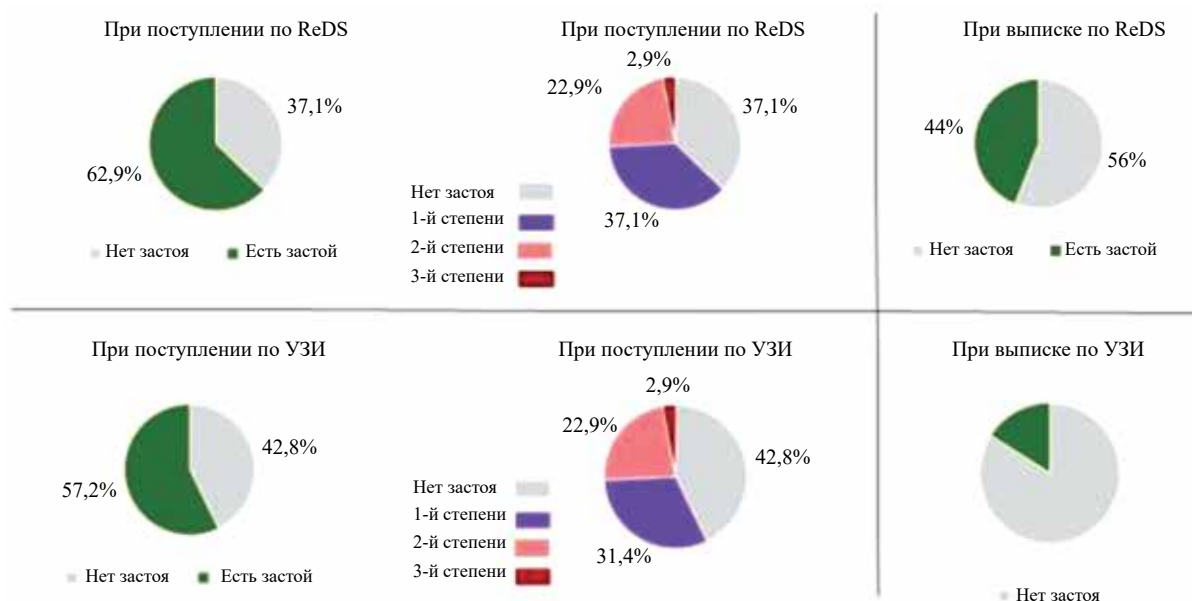


Рис. 3. Частота застоя в легких у пациентов с острой декомпенсированной хронической сердечной недостаточностью при поступлении и выписке по данным исследования ReDS и УЗИ легких ($n = 35$)

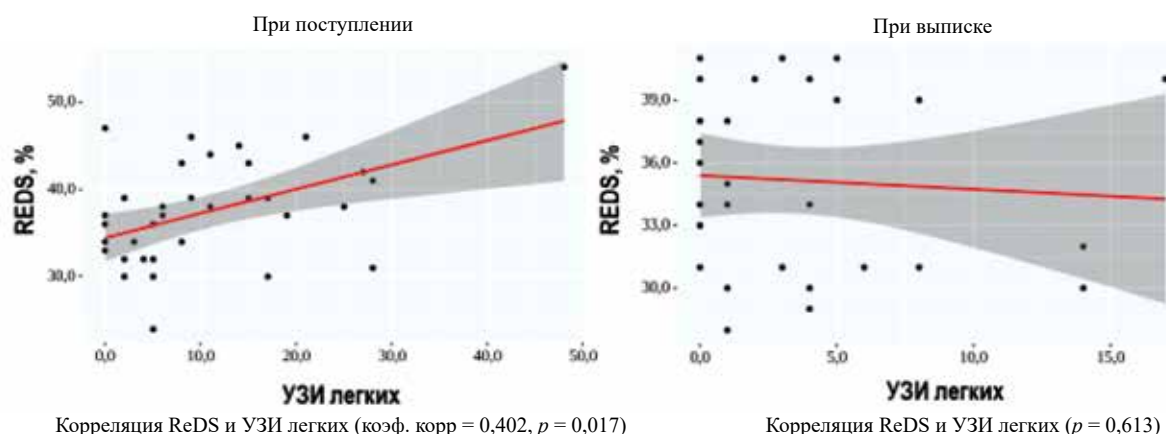


Рис. 4. Корреляционная взаимосвязь между показателями ReDS (%) и УЗИ легких (сумма В-линий)

ОБСУЖДЕНИЕ

Точность диагностики легочного застоя при помощи УЗИ легких высока, чувствительность и специфичность данного метода превышают 95%. Консенсус экспертов рекомендует УЗИ легких для диагностики легочного застоя [15]. Поэтому УЗИ легких в данном исследовании рассматривалось как золотой стандарт для оценки легочного застоя. Однако данное исследование является полуквантитативным методом и требует соответствующего оборудования и высококвалифицированных специалистов.

В качестве альтернативного метода для количественной оценки степени застоя в легких и отображения процентного содержания легочной жидкости

за 45 с может быть использована система ReDS. Это неинвазивная технология, не требующая каких-либо экспертных методик.

Была продемонстрирована сильная корреляция между показателями ReDS и клиническими признаками легочного застоя у пациентов с острой декомпенсированной хронической сердечной недостаточностью во время нахождения в стационаре [16]. Показано, что значения ReDS имеют сильную корреляцию с другими методами оценки, включая компьютерную томографию высокого разрешения (0,90 (95%-й доверительный интервал (95% ДИ)) 0,85–0,95) [17] и катетеризацию правых отделов сердца [18]. В исследовании, проведенном в Японии, наблюдалась умеренная корреляция между значениями

ReDS и компьютерной томографией высокого разрешения ($r = 0,65$; $p < 0,001$). Кроме того, было показано, что значение ReDS является независимым предиктором легочного застоя после поправки на значение натрийуретического пептида (NT-proBNP) и массу тела пациента [19].

Золотым стандартом для количественной оценки выраженности легочного застоя является катетеризация правых отделов сердца с измерением давления заклинивания в легочной артерии (ДЗЛА). Однако учитывая ряд ограничений, таких как инвазивный характер процедуры, риск осложнений, в том числе обострение сердечной недостаточности, особенно у пациентов с нестабильной гемодинамикой, а также у тех, кто получает антикоагулянты, катетеризация правых отделов сердца в рутинной клинической практике широко не применяется.

В исследовании, проведенном в Израиле, у 139 пациентов с СН был выявлен положительный коэффициент корреляции между значениями ReDS и давлением в легочной артерии ($r = 0,492$; $p < 0,001$), а также значениями и ReDS и центральным венозным давлением ($r = 0,406$; $p < 0,001$). Показано, что значение ReDS (пороговое значение 34%) обладает высокой чувствительностью (90,7%), специфичностью (77,1%) и отрицательной прогностической ценностью (94,9%) для определения ДЗЛА 18 мм рт. ст. [20]. В другом исследовании выявлена умеренная корреляция между значениями ReDS и ДЗЛА ($r = 0,698$; $p < 0,001$), а значение REDS 28% указывает на пороговое значение для прогнозирования ДЗЛА > 15 мм рт. ст. с достаточно высокой чувствительностью (0,70) и специфичностью (0,75) [17].

Было показано, что технология ReDS сопоставима с УЗИ легких в выявлении субклинического застоя в легких, так значения ReDS более 35% имели чувствительность 66,7%, специфичность 87,5% и отрицательную прогностическую ценность 93,3% по сравнению с В-линиями при ультразвуковом исследовании легких [11].

В нашем исследовании застой в легких при поступлении, по данным ReDS, диагностирован у 62,9%, по данным УЗИ – у 57,2% пациентов. Выявлена умеренная корреляционная связь между показателями ReDS (%) и УЗИ легких (сумма В-линий) при поступлении ($r = 0,402$; $p = 0,017$). Была изучена также межоператорская вариабельность значений REDS. Коэффициент согласия для исследования ReDS между операторами по выявлению застоя составил $\kappa = 0,82$ (0,908 при поступлении и 0,657 при выписке), что свидетельствует о практически полном согласии в значениях между двумя операторами. Это подтверждают и данные литературы. В исследовании в

Японии с участием 10 здоровых добровольцев продемонстрирована также очень высокая надежность измерений ReDS между тремя операторами (0,966; 95% ДИ 0,952–0,976). Это позволяет предположить, что однократное измерение ReDS является надежным [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, технология дистанционного диэлектрического исследования имеет умеренную корреляцию с УЗИ легких в отношении оценки легочного застоя у пациентов, госпитализированных с ХСН. Однако следует сказать, что в настоящее время данные методы могут рассматриваться как взаимодополняющие, а использование технологии ReDS у пациентов с СН требует дальнейшего изучения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Chioncel O., Mebazaa A., Harjola V.P., Coats A.J., Piepoli M.F., Crespo-Leiro M.G. et al. On behalf of the ESC heart failure long-term registry investigators. Clinical phenotypes and outcome of patients hospitalized for acute heart failure: the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19:1242e1254. DOI: 10.1002/ehf.890.
2. Rattarasarn I., Yingchoncharoen T., Assavapokee T. Prediction of rehospitalization in patients with acute heart failure using point-of-care lung ultrasound. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2022;22:330. DOI: 10.1186/s12872-022-02781-9.
3. Rivas-Lasarte M., Maestro A., Fernández-Martínez J., López-López L., Solé-González E., Vives-Borrás M. et al. Prevalence and prognostic impact of subclinical pulmonary congestion at discharge in patients with acute heart failure. *ESC Heart Fail.* 2020;7:2621e2628. DOI: 10.1002/ehf2.12842.
4. Adamson P.B., Abraham W.T., Aaron M., Aranda J.M., Bourge R.C., Smith A. et al. CHAMPION trial rationale and design: the long-term safety and clinical efficacy of a wireless pulmonary artery pressure monitoring system. *J. Card. Fail.* 2011;17:3e10. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.08.002.
5. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure: a report of the American college of Cardiology/American heart association joint committee on clinical practice guidelines. *Circulation.* 2022;145:e895–e1032. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001063.
6. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2021;42:3599e3726. DOI: 10.1002/ehf.2333.
7. Platz E., Merz A., Jhund P., Vazir A., Campbell R., McMurray J.J. Dynamic changes and prognostic value of pulmonary congestion by lung ultrasound in acute and chronic heart failure: a systematic review. *European Journal of Heart Failure.* 2017;19(9):1154–1163. DOI: 10.1002/ehf.839.
8. Picano E., Scali M.C., Ciampi Q., Lichtenstein D. Lung ultrasound for the cardiologist. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2018;11(11):1692–1705. DOI: 10.1016/j.jcmg.2018.06.023.
9. Pivetta E., Goffi A., Nazerian P., Castagno D., Tozzetti C., Tizzani P. et al. Lung ultrasound integrated with clinical assess-

- ment for the diagnosis of acute decompensated heart failure in the emergency department: a randomized controlled trial. *European Journal of Heart Failure*. 2019;21:754–766. DOI: 10.1002/ehf.1379.
10. Sattar Y., Zghouzi M., Suleiman A., Sheikh A., Kupferman J., Sarfraz A. et al. Efficacy of remote dielectric sensing (ReDS) in the prevention of heart failure rehospitalizations: a metaanalysis. *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives*. 2021;11(5):646–652. DOI: 10.1080/20009666.2021.1955451.
 11. Izumida T., Imamura T., Kinugawa K. Remote dielectric sensing and lung ultrasound to assess pulmonary congestion. *Heart and Vessels*. 2023;38:517–522. DOI: 10.1007/s00380-022-02190-0.
 12. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*. 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.
 13. Gheorghiade M., Follath F., Ponikowski P. et al. European Society of Cardiology; European Society of Intensive Care Medicine. Assessing and grading congestion in acute heart failure: a scientific statement from the acute heart failure committee of the heart failure association of the European Society of Cardiology and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine. *Eur. J. Heart Fail.* 2010;12(5):423–433. DOI: 10.1093/eurjhf/hfq045.
 14. Yuriditsky E., Horowitz J.M., Panebianco N.L., Sauthoff H., Saric M. Lung ultrasound imaging: a primer for echocardiographers. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2021;34(12):1231–1241. DOI: 10.1016/j.echo.2021.08.009.
 15. Volpicelli G., Elbarbary M., Blaivas M., Lichtenstein D.A., Mathis G., Kirkpatrick A.W. et al. International liaison committee on lung ultrasound (ILC-LUS) for international consensus conference on lung ultrasound (ICC-LUS) international evidence based recommendations for point-of-care lung ultrasound. *Intensive Care Med.* 2012;38(4):577–591. DOI: 10.1007/s00134-012-2513-4.
 16. Uriel N., Sayer G., Imamura T., Rodgers D., Kim G., Raikhelkar J. et al. Relationship between noninvasive assessment of lung fluid volume and invasively measured cardiac hemodynamics. *J. Am. Heart Assoc.* 2018;7:e009175. DOI: 10.1161/jaha.118.009175.
 17. Imamura T., Hori M., Ueno Y., Narang N., Onoda H., Tanaka S. et al. Association between lung fluid levels estimated by remote dielectric sensing values and invasive hemodynamic measurements. *J. Clin. Med.* 2022;11(5):1208. DOI: 10.3390/jcm11051208.
 18. Amir O., Rappaport D., Zafrir B., Abraham W.T. A novel approach to monitoring pulmonary congestion in heart failure: initial animal and clinical experiences using remote dielectric sensing technology. *Congest. Heart Fail.* 2013;19(3):149–155. DOI: 10.1111/chf.12021.
 19. Amir O., Azzam Z.S., Gaspar T., Faranesh-Abboud S., Andria N., Burkhoff D. et al. Validation of remote dielectric sensing (ReDS™) technology for quantification of lung fluid status: comparison to high resolution chest computed tomography in patients with and without acute heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2016;221:841–846. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.06.323.
 20. Imamura T., Gonoï W., Hori M., Ueno Y., Narang N., Onoda H. et al. Validation of noninvasive remote dielectric sensing system to quantify lung fluid levels. *J. Clin. Med.* 2021;11(1):164. DOI: 10.3390/jcm11010164.
 21. Hori M., Imamura T., Fukuo A., Fukui T., Koi T., Ueno Y. et al. Validation of inter-rater and intra-rater reliability of remote dielectric sensing measurement. *Int. Heart J.* 2022;63:73e76. DOI: 10.1536/ihj.21-663.

Вклад авторов

Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Вацик-Городецкая М.В. – концепция и дизайн исследования. Толкачева В.В., Зоря О.Т., Кабельо Монтойа Ф.Э. – анализ полученных данных, написание текста статьи. Назаров И.С., Лапшин А.А., Смирнов И.П., Хуцишвили Н.И., Галочкин С.А – сбор и обработка материалов.

Информация об авторах

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

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

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

Зоря Ольга Таировна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, olyazorya2020@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0002-6855-0079>

Кабельо Монтойа Флора Элиса – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика 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 имени академика В.С. Моисеева РУДН, г. Москва, nazarovradomla@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0950-7487>

Лапшин Артем Алексеевич – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, lapshin_aa@pfur.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4308-4764>

Смирнов Илья Павлович – ординатор, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, zzevor@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-0285-1752>

Хуцишвили Нуцико Ивановна – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, nutsiko.khutsishvili@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-2669-8092>

Галочкин Святослав Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, galochkin-sa@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7370-8606>

Вазик-Городецкая Мария Васильевна – канд. мед. наук, зам. главного врача по анестезиологии и реанимации ГКБ им. В.В. Виноградова, г. Москва, m.vatsyk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6874-8213>

(✉) Толкачева Вероника Владимировна, tolkachevav@mail.ru

Поступила в редакцию 20.02.2024;
одобрена после рецензирования 15.04.2024;
принята к публикации 13.06.2024

УДК 616.894-053.8-021.6:577.218
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>

Изменение экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия у экспериментальных животных с моделью болезни Альцгеймера

Кукла М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Бердников А.К., Колотьева Н.А., Салмина А.Б.

Научный центр неврологии
Россия, 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, 80

РЕЗЮМЕ

Цель: оценить экспрессию VEGFR1 и VEGFR2 и зрелость клеток эндотелия в нейрогенных нишах при экспериментальной болезни Альцгеймера (БА).

Материалы и методы. Исследование проведено на самцах мышей линии C57BL/6 в возрасте 6 мес. Экспериментальной группе ($n = 15$) вводили 2 мкл 1 мМ раствора A β 25-35 в поле CA1 гиппокампа, контрольной группе ($n = 15$) – физиологический раствор. Пластичность мозга оценивали на 10-е, 17- и 38-е сут после операции с использованием теста условной реакции пассивного избегания. Экспрессию маркеров (VEGFR1, VEGFR2, CLDN5) исследовали методом иммуногистохимии с помощью системы визуализации Image ExFluor.

Результаты. У животных контрольной группы когнитивный тренинг стимулирует процессы неогенеза в нейрогенных нишах головного мозга, что сопровождается формированием микрососудов со зрелым эндотелием. У животных с экспериментальной моделью БА регистрируется раннее и выраженное увеличение экспрессии VEGFR1 к 7-м сут после когнитивной нагрузки, сопровождаемое нарушением барьерогенеза и высоким уровнем экспрессии VEGFR2 к 28-м сут после когнитивной нагрузки. Эти изменения сопряжены с формированием мелких сосудов с недостаточной структурной компетентностью клеток эндотелия.

Заключение. Неоангиогенез в нейрогенных нишах животных с экспериментальной моделью БА характеризуется несостоятельностью механизмов регуляции субпопуляционного состава клеток эндотелия, нарушением стабилизации эндотелиального слоя и снижением скорости созревания клеток эндотелия во вновь образованных микрососудах к периоду манифестации когнитивного дефицита, что может способствовать нарушению микроциркуляции и нейрогенеза в нейрогенных нишах, а также развитию патологической проницаемости и нейровоспаления. В целом нарушение процессов неоангиогенеза в нейрогенных нишах, регистрируемое при когнитивной нагрузке животных с моделью БА, свидетельствует о возможном вкладе этого механизма в развитие aberrантной пластичности головного мозга.

Ключевые слова: VEGFR1, VEGFR2, CLDN5, нейрогенез, ангиогенез, нейрогенные ниши

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении исследования.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00126, <https://rscf.ru/project/22-15-00126>.

Соответствие принципам этики. Исследование утверждено решением локального этического комитета ФГБНУ «Научный центр неврологии» (протокол № 5-3/22 от 01.06.2022).

Для цитирования: Кукла М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Бердников А.К., Колотьева Н.А., Салмина А.Б. Изменение экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия у экспериментальных животных с моделью болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):47–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>.

✉ Кукла Мария Владимировна, mashenka.ryazanova@list.ru

Changes in VEGFR1 and VEGFR2 expression and endothelial cell maturity in laboratory animals with a model of Alzheimer's disease

Kukla M.V., Averbchuk A.S., Stavrovskaya A.V., Rozanova N.A., Berdnikov A.K., Kolotyeva N.A., Salmina A.B.

Research Center of Neurology
80, Volokolamskoye Highway, Moscow, 125367, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the expression of VEGFR1 and VEGFR2 and the maturity of endothelial cells in neurogenic niches in the model of Alzheimer's disease.

Materials and methods. The study was carried out on 6-month-old male C57BL/6 mice. The experimental group ($n = 15$) received 2 μ l of 1 mM A β 25-35 solution in the CA1 hippocampal region, while the control group ($n = 15$) received normal saline. Brain plasticity was assessed at day 10, 17, and 38 after surgery by the passive avoidance test. The expression of VEGFR1, VEGFR2, and CLDN5 was assessed by immunohistochemistry and the Image ExFluorimaging system.

Results. In the control group, cognitive training stimulated angiogenesis in the neurogenic niches of the brain, which was accompanied by the formation of microvasculature with fully mature endothelium. In the experimental group, an early and pronounced increase in the VEGFR1 expression was observed by day 7 after cognitive training, which was followed by impaired barrier formation and high VEGFR2 expression by day 28 after cognitive training. These changes were associated with the formation of small vessels with structural incompetence of endothelial cells.

Conclusion. Angiogenesis in neurogenic niches of the animals with the model of Alzheimer's disease is characterized by incompetent mechanisms regulating the subpopulation composition of endothelial cells, impaired stabilization of the endothelial layer, and a decrease in the maturation rate of endothelial cells in newly formed microvessels by the time of cognitive deficit manifestation. This may contribute to microcirculatory dysfunction and impaired neurogenesis in neurogenic niches as well as to the development of pathological permeability and neuroinflammation. On the whole, the disruption of angiogenesis in neurogenic niches observed in the animal model of Alzheimer's disease suggests a potential contribution of this mechanism to the development of aberrant brain plasticity.

Keywords: VEGFR1, VEGFR2, CLDN5, neurogenesis, angiogenesis, neurogenic niches

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

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00126, <https://rscf.ru/project/22-15-00126>.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics Committee at the Research Center of Neurology (Protocol No. 5-3/22 of 01.06.2022).

For citation: Kukla M.V., Averbchuk A.S., Stavrovskaya A.V., Rozanova N.A., Berdnikov A.K., Kolotyeva N.A., Salmina A.B. Changes in VEGFR1 and VEGFR2 expression and endothelial cell maturity in laboratory animals with a model of Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):47–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется нейродегенеративными изменениями, в основе которых лежат нарушение синтеза и накопление бета-амиоида (А β) в межклеточном пространстве [1, 2]. Одновременно происходит скопление фосфорилированного тау-белка внутри нейронов, что приводит к повреждению и гибели клеток мозга.

Влияние А β на нейроны приводит к дисфункции клеточных мембран, нарушению сигнальных путей и преждевременной гибели нейронов. Эти изменения оказываются особенно значимыми в областях головного мозга, ответственных за формирование памяти и когнитивные функции, таких как гиппокамп [3]. Активация микроглии в ответ на аккумуляцию А β провоцирует нейровоспаление, а повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) под воздействи-

ем Аβ инициирует нарушение барьерных функций, дополнительно способствуя развитию воспаления и повреждения ткани [4]. Кроме повреждения ГЭБ, микрососуды при БА подвергаются интенсивному ремоделированию, что сопровождается непродуктивным ангиогенезом и aberrантным барьерогенезом [5]. Особую значимость эти события могут приобретать в нейрогенных нишах. Исследования показали, что при ишемическом повреждении головного мозга новые микрососуды с повышенной проницаемостью ГЭБ играют важную роль не только в развитии нейровоспаления, но и в образовании новых областей нейрогенеза, что способствует восстановительным процессам в мозговой ткани [6].

Следует учитывать, что сосудистый скаффолд играет ключевую роль в регуляции нейрогенеза. В субвентрикулярной зоне (SVZ) повышенная проницаемость ГЭБ способствует поступлению регуляторных молекул из крови в микроокружение нейральных стволовых клеток (НСК) и нейральных прогениторных клеток (НПК). В субгранулярной зоне гиппокампа (SGZ) стенка микрососудов менее проницаема, и поэтому локально продуцирующиеся факторы в большей степени ответственны за регуляцию процессов поддержания пула НСК и НПК [7]. Такие изменения локального микроокружения при нейровоспалении и aberrантном ангиогенезе при БА, а также при других нейродегенеративных заболеваниях или нарушениях развития головного мозга снижают интенсивность нейрогенеза, что, в свою очередь, способствует развитию когнитивного дефицита [8–10]. Так, ранее мы показали [11], что в период, предшествующий развитию когнитивного дефицита у животных с экспериментальной БА, в SGZ гиппокампа интенсифицируются процессы разделения митохондрий и аутофагии клеток эндотелия микрососудов, что является признаком ремоделирования микрососудов.

Роль сосудисто-эндотелиального фактора роста – VEGF – давно изучается в контексте нейрогенеза и церебрального ангиогенеза. В головном мозге рецепторы VEGF экспрессируются на клетках нейрональной, глиальной, макрофагальной и эндотелиальной природы и регулируют различные аспекты их активности в норме и при патологии [12, 13], обеспечивая передачу сигналов, позитивно регулирующих пролиферацию, миграцию и развитие клеток. Существует три вида рецепторов: VEGFR1 (Flt-1), VEGFR2 (KDR или Flk-1) и VEGFR3 (Flt-4). VEGFR1 и VEGFR2 играют важную роль в регуляции ангиогенеза и нейрогенеза в мозге, в то время как VEGFR3 обычно ассоциируется с лимфатическим ангиогенезом и регуляцией пролиферации клеток эндотелия лимфа-

тических сосудов [14], а основными продуцентами VEGF являются клетки нейрональной и глиальной природы [15, 16].

С учетом того, что процессы ангиогенеза сопровождаются приобретением клетками эндотелия специфического фенотипа – tip, stalk, phalanx, важно упомянуть о том, что активация различных видов рецепторов на этих клетках обеспечивает регуляцию этой специализации. Так, активация VEGFR2 на мембране tip-клеток (мигрирующих по градиенту концентрации проангиогенных молекул) приводит к повышению уровня экспрессии Dll4. Этот белок затем взаимодействует с Notch-рецепторами на соседних эндотелиальных клетках, что вызывает снижение экспрессии VEGFR2 и VEGFR3 в этих клетках. Этот процесс предотвращает конверсию stalk-клеток (пролиферирующих, идущих вслед за tip-клетками и формирующих стенку вновь образующегося микрососудов) в tip-клетки (механизм латерального ингибирования). Активация VEGFR1 на мембране phalanx-клеток (обеспечивающих стабилизацию барьерной функции сосудистой стенки) способствует их миграции [17, 18], причем экспрессия обоих типов рецепторов – VEGFR1 и VEGFR2 – в ткани мозга эксклюзивна для клеток эндотелия [19]. Стабилизация ГЭБ во вновь образованных микрососудах обеспечивается за счет индукции экспрессии в клетках эндотелия белков плотных и адгезионных контактов (JAM, ZO1, CLDN5 и др.) и снижения локальной продукции VEGF, что важно для поддержания структурной целостности барьера [16, 20]. При несостоятельности этих механизмов барьерогенез является неэффективным и вероятно развитие нейровоспаления.

Целью нашей работы стала оценка экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия в нейрогенных нишах при экспериментальной болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования были отобраны 30 самцов мышей линии C57BL/6. Возраст мышей к началу экспериментов составлял 6 мес. Животных содержали в стандартных условиях вивария с круглосуточным доступом к пище и воде. Для анестезии использовался золетил-100 от компании Virbac Sante Animale (Франция), разведенный физиологическим раствором 1 : 4. Смесь вводили внутримышечно (дозировка 1,5 мг активного вещества на 25 г массы тела). Также применяли ксилу (Interchemie werken «De Adelaar» B.V., Нидерланды), разведенную в соотношении 1 : 2, которую вводили внутримышечно в дозировке 0,6 мг на 25 г массы.

Была проведена стереотаксическая операция, в ходе которой использовались координаты: AP – 2,0; ML – 1,9; DV – 1,3. Опытной группе мышей ($n = 15$) билатерально вводили по 2 мкл 1 мМ раствора A β 25-35 (Sigma-Aldrich Co., США) непосредственно в гиппокамп. Контрольная группа ($n = 15$) получала аналогичные инъекции физиологического раствора в том же объеме.

Все исследования проводились в соответствии с принципами этичного обращения с животными и были одобрены локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 5-3/22 от 01.06.2022).

Когнитивный тренинг. Полный протокол и результаты тестирования когнитивных функций были представлены нами ранее в [11]. Для анализа применялся тест условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и программа ShutAvoid 1.8.03 на оборудовании Panlab Harvard Apparatus (Испания). Оценка проводилась на 10, 17 и 38-е сут после операции в дневное время (что соответствует 1, 7 и 28-м сут после когнитивного тренинга животных).

В каждой временной точке осуществляли забор биологического материала (по пять животных от каждой группы) через 1 ч после оценки когнитивных функций.

Иммуногистохимическое исследование. Для выведения из эксперимента животных анестезировали и декапитировали. Изъятый мышинный головной мозг фиксировали в 4%-м параформальдегиде (Wuhan Servicebio Co., Ltd., Китай), на криостате Tissue-Tek® Cryo3 (Sakura-Finetek, Япония) изготавливали гистологические срезы толщиной 10 мкм. Биоматериал хранили при температуре 4 °C.

Иммуногистохимическое окрашивание осуществляли первично мечеными антителами: anti-VEGFR2 (1:250, AF6281-F488, Affinity, Китай); anti-CLDN5 (1:250, AF5216-F488, Affinity, Китай); anti-CD31 (1:250, AF6191-F555, Affinity, Китай) и первичными anti-VEGFR1 (1:100, FNab09393, FineTest, Китай) с соответствующими вторичными козьими антикроличьими антителами (1:100, E-AB-1060, Elabscience, Китай).

Перед окрашиванием срезы предварительно отмывали в PBS (2.1.1, ООО «Росмедбио», Россия) 10 мин, а затем 20 мин в 0,1%-м растворе Triton X-100 (Calbiochem Biochemicals, США) с добавлением 5%-й BSA (1126GR100, BioFroxx, Германия). Срезы заключали под покровное стекло с помощью монтирующей среды Fluoroshield Mounting with DAPI (Sigma Aldrich CO., F6057, США). Визуализацию осуществляли на системе визуализации Image ExFluorer (LCI, Корея), изображения обрабатывали

плагином для программы ImageJ [21]. Интенсивность экспрессии указанных маркеров характеризовали количеством клеток, экспрессирующих соответствующий маркер, нормированных на 100 DAPI-позитивных клеток.

Протокол иммуноблоттинга. Извлечение белков из гомогенатов ткани головного мозга проводилось с применением RIPA Lysis Buffer (Servicebio, Китай) на льду. Разделение белков осуществлялось методом электрофореза SDS-PAGE с загрузкой 40 мкг белка в каждую лунку. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (0,45 мкм, Bio-Rad, США) проводился с использованием аппарата для влажного электропереноса SVT-2 (Servicebio, Китай) при постоянной силе тока 300 мА в течение 30 мин. Мембрана инкубировалась с первичными антителами VEGF (1:1000, AF5131, Affinity, Китай), BDNF (1:1000, DF6387, Affinity, Китай), Actin (1:1500, AF7018, Affinity, Китай) в течение 12 ч при температуре 4 °C. После инкубации производилась промывка мембраны в растворе Трис с Tween-20. Следующая инкубация мембраны со вторичными антителами (1:1000, SAA544Rb59, Cloud-Clone, Китай), содержащими пероксидазу, проводилась в течение 60 мин при 37 °C. Для визуализации использовался краситель DAB. Детекция белков проводилась с использованием системы Geldoc Go (Bio-Rad, США). Для анализа полученных изображений использовалось программное обеспечение Bio-Rad ImageLab.

Статистический анализ. Результаты УРПИ анализировались с использованием однофакторного анализа ANOVA и теста Фишера. Данные иммуногистохимических исследований оценивались с помощью *U*-теста Манна – Уитни в программном пакете Statistica v. 12.0 (StatSoft Inc., США). Результаты считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M + \sigma$).

Результаты и их обсуждение. Как мы показали ранее, у животных с используемой моделью нейродегенерации альцгеймеровского типа к 28-м сут после первой сессии в УРПИ-тесте регистрируется статистически значимое снижение когнитивных функций [11]. Это сопровождается изменением экспрессии Arg3.1/Arc в нейрогенных нишах головного мозга животных [22], что позволяет считать протокол УРПИ адекватным способом реализации когнитивного тренинга (обучения) в эксперименте.

Нами была проанализирована экспрессия VEGFR1 в нейрогенных нишах животных двух групп (рис. 1). У контрольной группы животных в SGZ и SVZ к 28-м сут наблюдается статистически значимое увеличение количества клеток, экспрессирующих

VEGFR1 по сравнению с предыдущими временными точками ($p = 0,0450$). Мы расцениваем это как индукцию неоангиогенеза с закономерным прогрессирующим увеличением к 28-м сут количества phalanx-клеток, формирующих эндотелиальный слой во вновь образованных микрососудах, что, вероятно, связано с активизацией нейрогенеза после когнитивного тренинга [23]. Косвенно это подтверждается тем, что VEGFR1 стимулирует миграцию phalanx-клеток

ток эндотелия, участвующих в формировании новых микрососудов [15]. Примечательно, что этот эффект инвертирован у животных с БА, у которых увеличение количества VEGFR1-иммунопозитивных клеток регистрируется намного раньше (на 7-е сут после тренинга), а затем практически нивелируется. Вероятно, это отражает несостоятельность механизмов стимулированного обучением неоангиогенеза у животных с моделью БА [11].

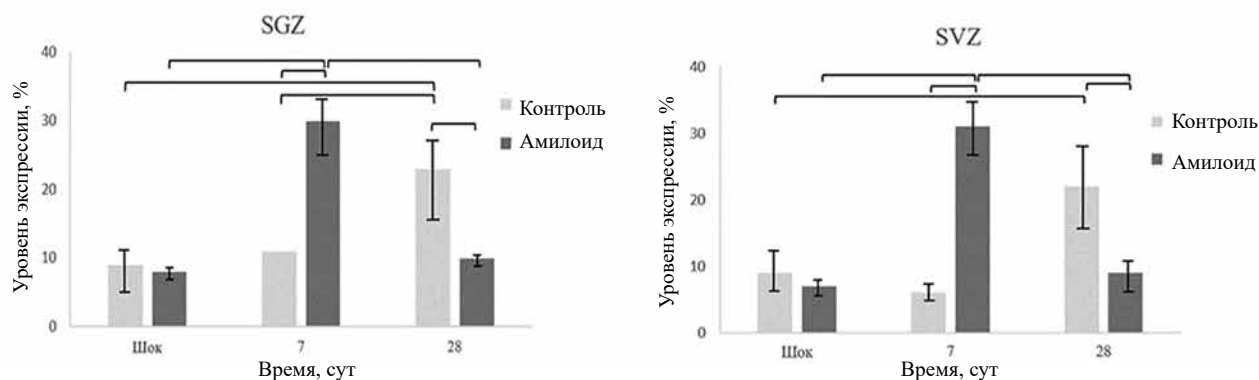


Рис. 1. Количество VEGFR1-иммунопозитивных клеток в SGZ и SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент когнитивного тренинга («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения, $M + \sigma$, $p < 0,05$

Далее мы проанализировали экспрессию VEGFR2 в нейрогенных нишах (рис. 2). Признаком усиленного ангиогенеза, стимулированного когнитивной нагрузкой (обучением), у животных обеих групп в SGZ гиппокампа являлось увеличение количества VEGFR2-иммунопозитивных клеток уже к 7-м сут ($p = 0,0495$). К 28-м сут у животных контрольной группы количество VEGFR2+ клеток уменьшилось,

что может быть связано со снижением числа tip-клеток эндотелия и увеличением количества stalk-клеток (механизм латерального ингибирования). У животных с БА этот механизм оказывается неэффективным, так как количество VEGFR2-иммунопозитивных клеток остается стабильно высоким в обеих нейрогенных нишах до 28-х сут наблюдения, соответствующих проявлению когнитивной дисфункции.

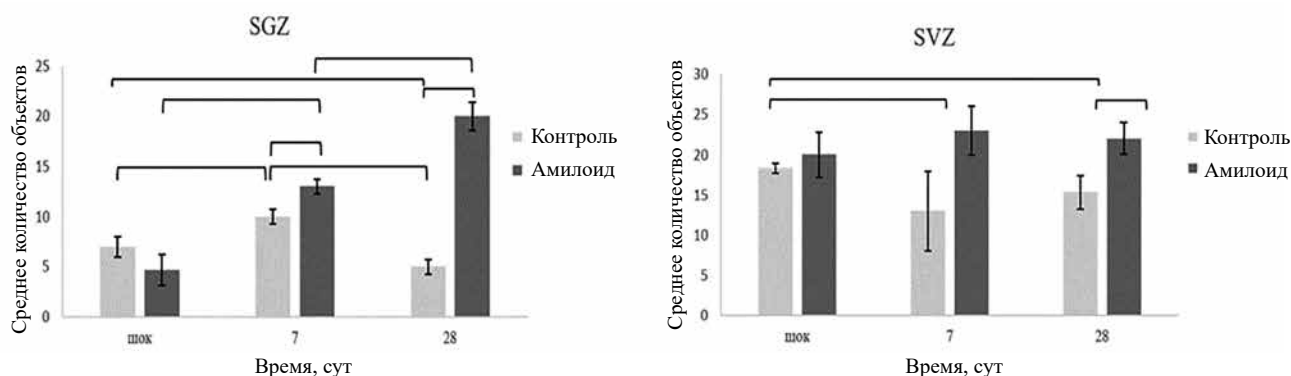


Рис. 2. Изменение количества VEGFR2-иммунопозитивных клеток в SGZ, SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент обучения («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения: количество VEGFR2-иммунопозитивных клеток нормировано на 100 DAPI+ клеток, $M + \sigma$, $p < 0,05$

Таким образом, неоангиогенез в нейрогенных нишах животных с экспериментальной моделью БА характеризуется несостоятельностью механизмов регуляции субпопуляционного состава клеток эндотелия и нарушением стабилизации эндотелиального слоя во вновь образованных микрососудах к периоду манифестации когнитивного дефицита (28-е сут после обучения).

При оценке уровня VEGFA в ткани головного мозга (рис. 3) мы обнаружили, что к 28-м сут после обучения и у контрольных животных, и у животных

с Аβ-моделью количество этого ангиогенного фактора прогрессивно снизилось, но статистически значимых различий в динамике между контрольной и экспериментальной группами не выявлено. Таким образом, уровень VEGF в ткани головного мозга не связан с зарегистрированной инверсией экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 в нейрогенных нишах у животных обеих групп. Вероятно, локальные изменения стимулированной обучением продукции VEGFA в SGZ и SVZ могут быть ответственными за наблюдаемые эффекты, и это требует дальнейшего изучения.

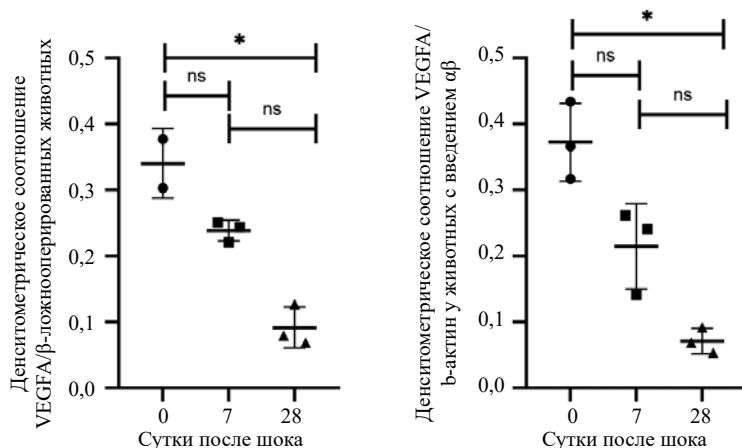


Рис. 3. Денситометрический анализ иммуноблоттинга гомогената ткани головного мозга ложнооперированных животных (Контроль) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (Амилоид) на предмет экспрессии VEGFA, нормированной относительно экспрессии β-актина: ns – отсутствует статистически значимое различие между группами, $M + \sigma$, $p < 0,05$

С учетом полученных данных о том, что при экспериментальной БА в нейрогенных нишах головного мозга процессы ангиогенеза, простимулированные когнитивной нагрузкой, сопровождаются вероятным нарушением формирования эндотелиального слоя, далее мы оценили, как это соотносится со зрелостью клеток эндотелия. Для этого мы проанализировали отношение числа CLDN5-экспрессирующих клеток эндотелия к общему числу CD31-иммунопозитив-

ных клеток в нейрогенных нишах (рис. 4). Примечательно, что в SGZ у животных с моделью экспериментальной БА, в отличие от животных контрольной группы, регистрируется статистически значимое снижение доли зрелых эндотелиоцитов (клетки CLDN5⁺, CD31⁺) к 28-м сут наблюдения. В SVZ схожие изменения развиваются раньше клетки на 7-е сут, т. е. в период, предшествующий манифестации когнитивного дефицита.

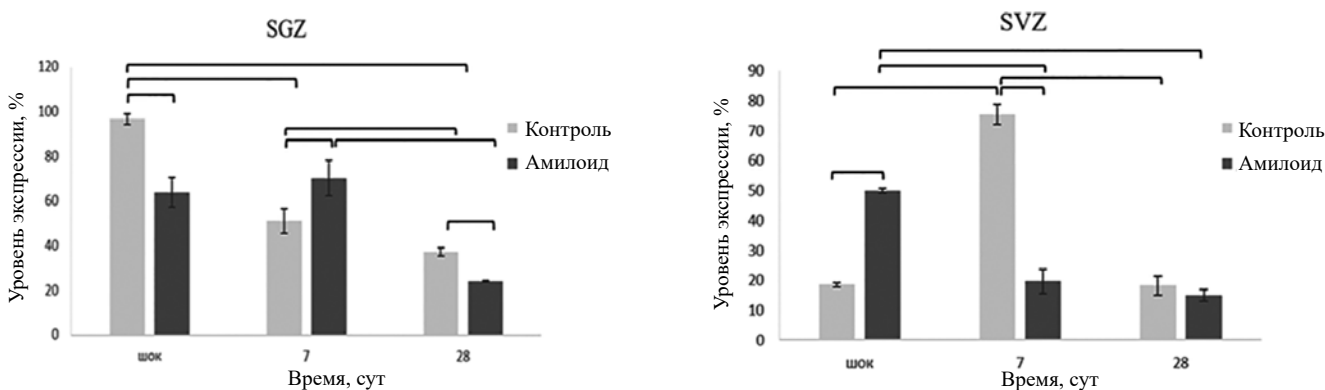


Рис. 4. Изменение доли клеток CLDN5⁺ в популяции эндотелиоцитов CD31⁺ в SGZ и SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент обучения («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения, $M + \sigma$, $p < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оценке особенностей экспрессии двух подтипов рецепторов VEGF и белка плотных контактов в клетках эндотелия микрососудов SGZ и SVZ мы установили, что обучение (когнитивный тренинг) животных контрольной группы приводит к интенсификации неангиогенеза в нейрогенных нишах головного мозга, и это, вероятно, необходимо для поддержания эффективного нейрогенеза. Указанные события сопровождаются субпопуляционными изменениями клеток эндотелия (механизм латерального ингибирования), признаками их созревания (увеличение экспрессии CLDN5) в течение 28 сут после обучения, что соответствует периоду формирования новых нейронов в нейрогенной нише [24].

У животных с экспериментальной моделью БА ангиогенез в нейрогенных нишах тоже индуцируется после когнитивного тренинга. Однако к моменту проявления когнитивного дефицита (28-е сут после обучения) в этих регионах головного мозга регистрируется статистически значимое снижение количества VEGFR1-экспрессирующих клеток и сохранение высокого уровня VEGFR2-экспрессирующих клеток, что свидетельствует о несостоятельности формирования стабильного эндотелиального слоя, вероятно, вследствие нарушения механизмов латерального ингибирования. Изменение процессов неангиогенеза в нейрогенных нишах, регистрируемое при когнитивной нагрузке животных с моделью болезни Альцгеймера, свидетельствует о возможном вкладе этого механизма в развитие нейровоспаления, несостоятельности локальной микроциркуляции и формирование aberrантной пластичности головного мозга.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Sehar U., Rawat P., Reddy A.P., Kopel J., Reddy P.H. Amyloid beta in aging and Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):12924. DOI: 10.3390/ijms232112924.
- Scopa C., Marrocco F., Latina V., Ruggeri F., Corvaglia V., La Regina. Impaired adult neurogenesis is an early event in Alzheimer's disease neurodegeneration, mediated by intracellular A β oligomers. *Cell Death & Differentiation*. 2020;27(3):934–948. DOI: 10.1038/s41418-019-0409-3.
- Бурняшева А.О., Стефанова Н.А., Рудницкая Е.А. Нейрогенез в зрелом головном мозге: изменения при старении и развитии болезни Альцгеймера. *Успехи геронтологии*. 2020;33(6):1080–1087. DOI: 10.34922/AE.2020.33.6.008.
- Komleva Y.K., Lopatina O.L., Gorina Y.V., Chernykh A.I., Trufanova L.V., Vais E.F. et al. Expression of NLRP3 inflammasomes in neurogenic niche contributes to the effect of spatial learning in physiological conditions but not in Alzheimer's type neurodegeneration. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2022;2(5):1355–1371. DOI: 10.1007/s10571-020-01021-y.
- Alvarez-Vergara M.I., Rosales-Nieves A.E., March-Diaz R., Rodriguez-Perinan G., Lara-Ureña N., Ortega-de San Luis. Non-productive angiogenesis disassembles A β plaque-associated blood vessels. *Nature Communications*. 2021;12(1):3098. DOI: 10.1038/s41467-021-23337-z.
- Lin R., Cai J., Nathan C., Wei X., Schleidt S., Rosenwasser R. et al. Neurogenesis is enhanced by stroke in multiple new stem cell niches along the ventricular system at sites of high BBB permeability. *Neurobiology of Disease*. 2015;(74):229–239. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.11.016.
- Pozhilenkova E.A., Lopatina O.L., Komleva Y.K., Salmin V.V., Salmina A.B. Blood-brain barrier-supported neurogenesis in healthy and diseased brain. *Reviews in the Neurosciences*. 2017;28(4):397–415. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0071.
- Salmina A.B., Gorina Y.V., Komleva Y.K., Panina Y.A., Malinovsky N.A. Early life stress and metabolic plasticity of brain cells: impact on neurogenesis and angiogenesis. *Biomedicines*. 2021;9(9):1092. DOI: 10.3390/biomedicines9091092.
- Горина Я.В., Осипова Е.Д., Моргунов А.В., Малиновская Н.А., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л. и др. Аберрантный ангиогенез в ткани головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(4):46–52. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-46-52.
- Morgun A.V., Osipova E.D., Boitsova E.B., Lopatina O.L., Gorina Y.V., Pozhilenkova E.A. et al. Vascular component of neuroinflammation in experimental Alzheimer's disease in mice. *Cell and Tissue Biology*. 2020;(14):256–262. DOI: 10.1134/S1990519X20040057.
- Аверчук А.С., Рязанова М.В., Баранич Т.И., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Новикова С.В. и др. Нейротоксическое действие β -амилоида сопровождается изменением митохондриальной динамики и аутофагии нейронов и клеток церебрального эндотелия в экспериментальной модели болезни Альцгеймера. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;175(3):291–297. DOI: 10.47056/0365-9615-2023-175-3-291-297.
- Lei Y., Chen X., Mo J.L., Lv L.L., Kou Z.W., Sun F.Y. Vascular endothelial growth factor promotes transdifferentiation of astrocytes into neurons via activation of the MAPK/Erk-Pax6 signal pathway. *Glia*. 2023;71(7):1648–1666. DOI: 10.1002/glia.24361.
- Okabe K., Fukada H., Tai-Nagara I., Ando T., Honda T., Nakajima K. Neuron-derived VEGF contributes to cortical and hippocampal development independently of VEGFR1/2-mediated neurotrophism. *Developmental Biology*. 2020;459(2):65–71. DOI: 10.1016/j.ydbio.2019.11.016.
- Monaghan R.M., Page D.J., Ostergaard P., Keavney B.D. The physiological and pathological functions of VEGFR3 in cardiac and lymphatic development and related diseases. *Cardiovascular Research*. 2021;117(8):1877–1890. DOI: 10.1093/cvr/cvaa291.
- Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 – two unequal brothers in mind. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013;70(10):1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3.
- Argaw A.T., Asp L., Zhang J., Navrazhina K., Pham T., Mariani J.N. et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012;122(7):2454–2468. DOI: 10.1172/JCI60842.

17. De Smet F., Segura I., De Bock K., Hohensinner P.J., Carmeliet P. Mechanisms of vessel branching: filopodia on endothelial tip cells lead the way. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009;29(5):639–649. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.185165.
18. Lacal P.M., Graziani G. Therapeutic implication of vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) targeting in cancer cells and tumor microenvironment by competitive and non-competitive inhibitors. *Pharmacological Research*. 2018;136:97–107. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.08.023.
19. Okabe K., Fukada H., Tai-Nagara I., Ando T., Honda T., Nakajima K. et al. Neuron-derived VEGF contributes to cortical and hippocampal development independently of VEGFR1/2-mediated neurotrophism. *Developmental Biology*. 2020;459(2):65–71. DOI: 10.1016/j.ydbio.2019.11.016.
20. Hashimoto Y., Greene C., Munnich A., Campbell M. The CLDN5 gene at the blood-brain barrier in health and disease. *Fluids and Barriers of the CNS*. 2023;20(1):22. DOI: 10.1186/s12987-023-00424-5.
21. Салмин В.В., Салмина А.Б., Моргун А.В. Патент РФ № 2020612777. Плагин для программы ImageJ для подсчета флуоресцентных меток на микрофотографиях. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020;(3). Опубликовано 03.03.2020
22. Рязанова М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Новикова С.В., Салмина А.Б. Особенности экспрессии Arg/Arg3.1 в ткани головного мозга при обучении животных с экспериментальной болезнью Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(3):49–56. DOI: 10.54101/ACEN.2023.3.6.
23. Naito H., Iba T., Takakura N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells. *International Immunology*. 2020;32(5):295305. DOI: 10.1093/intimm/dxaa008.
24. Niklison-Chirou M.V., Agostini M., Amelio I., Melino G. Regulation of adult neurogenesis in mammalian brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(14):4869. DOI: 10.3390/ijms21144869.

Вклад авторов

Кукла М.В. – разработка дизайна, выполнение тестирования и иммуногистохимических исследований, написание рукописи. Аверчук А.С. – выполнение иммуногистохимических исследований, обработка данных, написание рукописи. Ставровская А.В. – выполнение операции, тестирование животных, обработка данных. Розанова Н.А. – подготовка срезов головного мозга, выполнение иммуногистохимических исследований. Бердников А.К., Колотьева Н.А. – проведение, анализ и интерпретация данных иммуноблоттинга. Салмина А.Б. – разработка концепции исследования и дизайна, обработка полученных данных, написание рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Благодарности

Выражаем благодарность лаборатории экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии ФГБНУ «Научный центр неврологии» за проведение стереотаксической операции на животных, а также руководителю НОЦ «Мягкая материя и физика флюидов» МГТУ им. Н.Э. Баумана, д-ру физ.-мат. наук С.О. Юрченко и мл. науч. сотруднику НОЦ А. Копыловой за предоставление возможности работы и помощь при выполнении исследований на системе визуализации Image ExFluorger.

Информация об авторах

Кукла Мария Владимировна – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, mashenka.ryazanova@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0700-4912>

Аверчук Антон Сергеевич – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, antonaverchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1284-6711>

Ставровская Алла Вадимовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, alla_stav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Розанова Наталья Александровна – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, nataliarozanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9619-4679>

Бердников Арсений Константинович – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, akberdnikov@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-4195-2533>

Колотьева Наталия Александровна – д-р мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, bortnikova.n@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Салмина Алла Борисовна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, allasalmina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4012-6348>

(✉) Кукла Мария Владимировна, mashenka.ryazanova@list.ru

Поступила в редакцию 18.06.2024;
одобрена после рецензирования 02.07.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616.345-006.6:575.117:616.155.33
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-55-63>

Фенотипический профиль моноцитов крови и опухоль-ассоциированных макрофагов во взаимосвязи с экспрессией галектинов 1 и 3 при раке толстой кишки

Курносенко А.В.^{1,2}, Рейнгардт Г.В.^{1,2}, Полетика В.С.¹, Колобовникова Ю.В.¹,
Чумакова С.П.¹, Уразова О.И.¹, Грищенко М.Ю.^{1,2}, Чурина Е.Г.¹, Гамирова К.А.^{1,2}

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

² Томский областной онкологический диспансер (ТООД)
Россия, 634040, г. Томск, пр. Ленина, 115

РЕЗЮМЕ

Цель. Выявить особенности субпопуляционного состава моноцитов крови и макрофагов опухоли во взаимосвязи с плазменной концентрацией и внутриопухолевой экспрессией галектинов 1 и 3 у больных раком толстой кишки.

Материалы и методы. Обследованы 23 больных колоректальным раком (МКБ С18–20) – 5 мужчин и 18 женщин, средний возраст ($63,8 \pm 9,4$) лет. Группу контроля составили здоровые добровольцы, группу сравнения – пациенты с аденомами толстой кишки, сопоставимые по полу и возрасту. Материалом исследования являлись цельная кровь и биоптаты опухоли. Концентрацию галектинов 1 и 3 в крови определяли методом иммуноферментного анализа, содержание опухолевых галектин-1⁺ и галектин-3⁺ клеток – методом иммуногистохимии. Подсчет субпопуляций моноцитов крови выполняли методом проточной цитофлуориметрии, определение иммунофенотипов M1 (CD68⁺CD80⁺) и M2d (CD68⁺CD206⁺) макрофагов в опухолевой ткани – методом иммунофлуоресценции. Результаты исследования обрабатывали статистическими методами с применением программного пакета Jamovi 2.3.21 для Windows.

Результаты. У больных раком толстой кишки (РТК) установлена положительная связь между высокой плазменной концентрацией галектинов 1 и 3 и нарушением баланса моноцитов крови в виде снижения относительного содержания классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов и, напротив, увеличения численности неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ и переходных CD14⁺CD16⁻ клеток. Относительное количество M1 (CD68⁺CD80⁺) и M2d (CD68⁺CD206⁺) макрофагов в образцах тканей РТК оказалось сопоставимым и не зависело от уровня галектинов 1 и 3 в крови и опухоли. У пациентов с аденомами толстой кишки преобладала M2d-субпопуляция опухоль-ассоциированных макрофагов ($p = 0,031$).

Заключение. У больных РТК галектины 1 и 3 оказывают модулирующее влияние на соотношение неклассических CD14⁺CD16⁺⁺, переходных CD14⁺CD16⁻ и классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов в крови и не влияют на формирование M1/M2d-экспрессионного профиля опухоль-ассоциированных макрофагов.

Ключевые слова: галектины, моноциты, макрофаги, рак толстой кишки, иммунофенотип

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 СибГМУ (протокол № 8881 от 29.11.2021).

✉ Курносенко Анна Васильевна, kurnosenko.av@ssmu.ru

Для цитирования: Курносенко А.В., Рейнгардт Г.В., Полетика В.С., Колобовникова Ю.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Грищенко М.Ю., Чурина Е.Г., Гамирова К.А. Фенотипический профиль моноцитов крови и опухоль-ассоциированных макрофагов во взаимосвязи с экспрессией галектинов 1 и 3 при раке толстой кишки. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):55–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-55-63>.

Phenotypic profile of blood monocytes and tumor-associated macrophages in relation to the expression of galectins 1 and 3 in colorectal cancer

Kurnosenko A.V.^{1,2}, Reingardt G.V.^{1,2}, Poletika V.S.¹, Kolobovnikova Yu.V.¹, Chumakova S.P.¹, Urazova O.I.¹, Grishchenko M.Yu.^{1,2}, Churina E.G.¹, Gamirova K.A.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Tomsk Regional Cancer Center

115, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To identify the features of the subpopulation composition of blood monocytes and tumor macrophages in relation to the plasma concentration and intratumoral expression of galectins 1 and 3 in patients with colorectal cancer.

Materials and methods. A total of 23 patients with colorectal cancer (ICD C18-20) were examined – 5 men and 18 women (average age 63.8 ± 9.4 years). The control group consisted of healthy volunteers; the comparison group encompassed age- and sex-matched patients with colon adenomas. The study materials included whole blood and tumor biopsies. The concentration of galectins 1 and 3 in the blood was determined by enzyme-linked immunosorbent assay, the content of tumor galectin-1⁺ and galectin-3⁺ cells – by immunohistochemistry. Subpopulations of blood monocytes were evaluated by flow cytometry; the macrophage immunophenotypes M1 (CD68⁺CD80⁺) and M2d (CD68⁺CD206⁺) in tumor tissues were determined using immunofluorescence staining. Statistical processing of the research results was performed by the Jamovi 2.3.21 software package for Windows.

Results. In patients with colorectal cancer (CRC), a positive relationship was identified between high plasma concentrations of galectins 1 and 3 and an imbalance of blood monocytes manifested by a decrease in the relative count of classical CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes and, conversely, an increase in the number of non-classical CD14⁺CD16⁺⁺ and intermediate CD14⁺CD16⁻ cells. The relative numbers of M1 (CD68⁺CD80⁺) and M2d (CD68⁺CD206⁺) macrophages in CRC tissue samples turned out to be comparable and did not depend on the level of galectins 1 and 3 in the blood and tumor. In patients with colon adenomas, the M2d subpopulation of tumor-associated macrophages was predominant ($p = 0.031$).

Conclusion. In patients with CRC, galectins 1 and 3 have a modulating effect on the ratio of non-classical CD14⁺CD16⁺⁺, intermediate CD14⁺CD16⁻, and classical CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes in the blood and do not affect the M1/M2d expression profile of tumor-associated macrophages.

Keywords: galectins, monocytes, macrophages, colorectal cancer, immunophenotype

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8881 of 29.11.2021).

For citation: Kurnosenko A.V., Reingardt G.V., Poletika V.S., Kolobovnikova Yu.V., Chumakova S.P., Urazova O.I., Grishchenko M.Yu., Churina E.G., Gamirova K.A. Phenotypic profile of blood monocytes and tumor-associated macrophages in relation to the expression of galectins 1 and 3 in colorectal cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):55–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-55-63>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак толстой кишки (РТК) занимает одно из первых мест по уровню заболеваемости и смертности как в России, так и за ее пределами [1, 2]. Несмотря на значительные усилия, направленные на раннее выявление РТК и совершенствование методов лечения, до сих пор в половине случаев это заболевание на момент выявления имеет III–IV стадии. Одногодичная летальность также высока и составляет 19,2%, а пятилетняя выживаемость – 57%. Наблюдается прирост заболеваемости среди молодых людей [3].

Патогенез РТК основывается на взаимодействии опухолевых клеток с микроокружением опухоли (макрофагами, эндотелиальными и мезенхимальными прогениторными клетками, фибробластами и др.), опосредуемом многими регуляторными молекулами, в том числе галектинами – белками, связывающими β -галактозиды. Молекулы этого семейства характеризуются сходным по строению углевод-распознающим доменом и выполняют разнообразные функции как вне, так и внутри клетки [4–7]. Показано, что пул опухоль-ассоциированных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения и отдельных дендритных клеток популяруется за счет моноцитов крови [8].

Цель исследования – выявить особенности субпопуляционного состава моноцитов крови и макрофагов опухоли во взаимосвязи с плазменной концентрацией и внутриопухолевой экспрессией галектинов 1 и 3 у больных РТК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 23 пациента с верифицированным раком толстой кишки (МКБ C18–20) – 5 мужчин и 18 женщин, средний возраст ($63,8 \pm 9,4$) лет, находившихся на диспансерном учете в Томском областном онкологическом диспансере (главный врач – канд. мед. наук, доцент М.Ю. Грищенко). Пациенты были разделены на группы в соответствии со стадией заболевания: в группу с I стадией вошли 4 человека, со II стадией – 9, с III – 5, с IV – 5 человек. В группу сравнения были включены пациенты с аденомами толстой кишки – 8 мужчин и 7 женщин, средний возраст ($60,7 \pm 10,4$) лет. В контрольную группу вошли 11 здоровых добровольцев (6 мужчин и 5 женщин в возрасте $61,5 \pm 9,7$ лет) из числа обратившихся в лечебное учреждение с целью профосмотра.

Критериями исключения пациентов из исследования служили: хронические воспалительные неинфекционные или инфекционные (в стадии обострения) и аутоиммунные или аллергические (без достижения контроля) заболевания, гнойные процессы, наличие

других злокачественных новообразований, противоопухолевая терапия (на момент проведения исследования и в анамнезе), а также отказ пациента от участия в эксперименте. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8881 от 29.11.2021). Информацию о возрасте пациентов, диагнозе и локализации опухоли, стадии заболевания получали из медицинской документации.

Материалом исследования служили цельная венозная кровь и биоптаты опухолей (злокачественных и доброкачественных) толстой кишки. Концентрацию галектина-1 и галектина-3 в плазме крови измеряли методом иммуноферментного анализа с применением тест-систем BosterBio (США). Экспрессию галектинов в опухолевых биоптатах определяли методом иммуногистохимии по стандартной методике. Подсчет численности субпопуляций моноцитов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии на анализаторе Accuri BD (США) с применением антител к кластерам клеточной дифференцировки CD14, меченных фикоэритрином, и CD16, меченных FITC.

Пробоподготовка заключалась в лизисе эритроцитов, отмывании лейкоцитов, внесении в клеточную суспензию меченных флуорохромами антител согласно инструкции производителя, инкубировании раствора и внесении окрашивающего буфера Stain Buffer. Подсчет численности каждой субпопуляции моноцитов производили, исходя из способности клеток экспрессировать на поверхностной мембране CD14 и CD16. Моноциты, экспрессирующие CD14⁺CD16⁺⁺, относили к группе неклассических, CD14⁺CD16⁻ – классических и CD14⁺⁺CD16⁺ – промежуточных клеток.

Для установления колокализации маркеров CD68, CD206 и CD80 на поверхности макрофагов было выполнено тройное иммунофлуоресцентное окрашивание парафиновых срезов (по стандартной методике) с последующей конфокальной микроскопией. Иммунофлуоресцентную окраску проводили с использованием первичных антител: моноклональные мышиные анти-CD68 (Novus Biologicals, NBP2 445-39, клон KP1, рабочее разведение 1 : 200, США), поликлональные кроличьи анти-CD80 (Abcam, ab64116, рабочее разведение 1 : 70, США), поликлональные козы анти-CD206 (R&D Systems, AF2634, рабочее разведение 1 : 40, США). Использовали следующие комбинации вторичных антител: анти-мышиные AlexaFluor488-меченные, анти-кроличьи AlexaFluor555-меченные, анти-козы AlexaFluor647-меченные (рабочее разведение всех вторичных антител 1 : 400). При окрашивании ядер

использовали флуоресцентный ядерный краситель DAPI (ab104135, Abcam, США) для последующей их визуализации на конфокальном микроскопе Carl

Zeiss LSM 780 NLO (Германия). Полученные результаты анализировали с помощью программного обеспечения Black Zen и Qupath 0.4.4 (рис. 1).

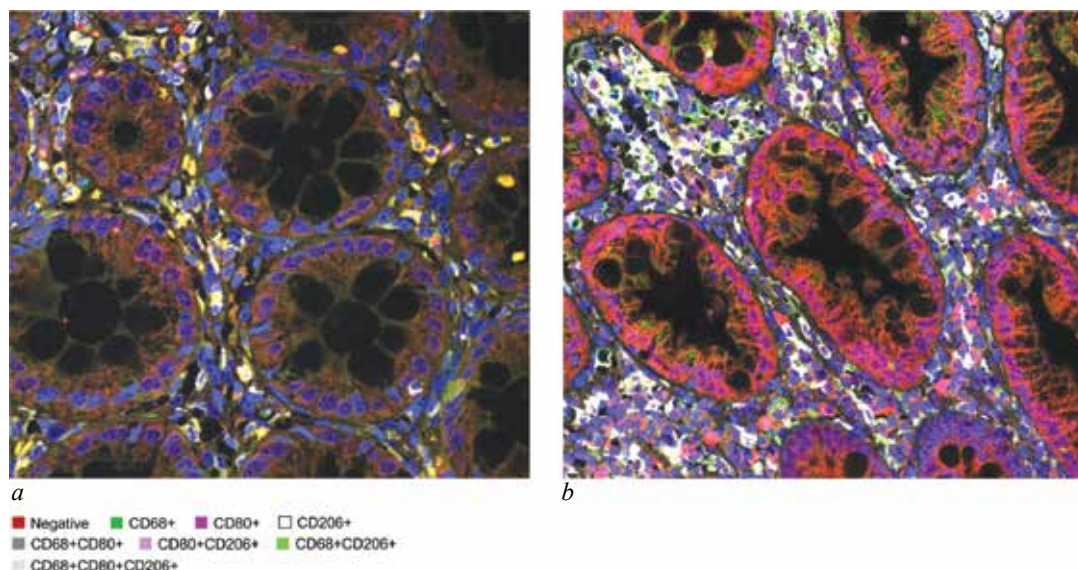


Рис. 1. Образец иммунофлуоресцентного окрашивания парафиновых срезов: *a* – рак толстой кишки, *b* – аденома толстой кишки

Использовали комбинации антител CD68/CD206/CD80. На основании данных об экспрессии указанных маркеров макрофаги, экспрессирующие CD68⁺CD80⁺, обозначали как клетки с иммунофенотипом M1, CD68⁺CD206⁺ – с иммунофенотипом M2d. Поскольку CD68 является общим маркером для макрофагов [9], первоначально оценивали количество CD68-позитивных клеток в процентном выражении от всех клеток стромы и далее определяли относительное количество CD68⁺CD206⁺ и CD68⁺CD80⁺ клеток.

Статистическая обработка результатов исследования выполнена в программном пакете Jamovi 2.3.21 для Windows. Для проверки нормальности распределения изученных параметров использовались критерии Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Для оценки статистической значимости различий количественных показателей между исследуемыми выборками использовали *U*-критерий Манна – Уитни. Для выявления взаимосвязей между двумя количественными показателями вычисляли ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Результаты считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным ранее проведенного нами исследования [10], содержание клеток, экспрессирующих галектин-1, в опухолевой ткани у пациентов с РТК было выше, чем в группе сравнения: 33,5 (27,0;

55,0)% при РТК и 11,0 (5,0; 21,0)% при аденомах ($p < 0,001$). Концентрация галектинов 1 и 3 в периферической крови при РТК также была выше, чем у пациентов с доброкачественными опухолями толстой кишки и здоровыми донорами в 2,5 и 6,6 раза соответственно ($p < 0,001$). Установлена положительная корреляционная связь между концентрацией галектина-1 и галектина-3 в плазме периферической крови ($r_s = 0,843$; $p < 0,01$).

В ходе изучения субпопуляционного состава моноцитов крови у пациентов с РТК были обнаружены статистически значимые различия в количестве классических, промежуточных и неклассических моноцитов между исследуемыми группами (табл. 1). В то же время общее количество лейкоцитов ($p = 0,201$) и моноцитов ($p = 0,673$) в крови оказалось сопоставимым.

Таблица 1

Субпопуляционный состав моноцитов крови у больных раком толстой кишки, <i>Me (Q₁; Q₃)</i>		
Субпопуляции моноцитов, %	Больные раком толстой кишки	Здоровые доноры
Классические CD14 ⁺ CD16 ⁻	75,53 (71,41; 78,12)	88,66 (86,06; 93,29)
	$p < 0,001$	
Промежуточные CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	8,76 (6,19; 10,53)	1,87 (0,93; 2,6)
	$p < 0,001$	
Неклассические CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	15,08 (11,80; 19,91)	4,09 (1,26; 5,51)
	$p < 0,001$	

Увеличение числа неклассических $CD14^{+}CD16^{+}$ моноцитов имело прямую сильную связь с уровнем галектина-1 ($rs = 0,557$) и галектина-3 ($rs = 0,780$) в плазме крови. Аналогичная взаимосвязь прослеживалась и в отношении численности промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ моноцитов: отмечалась прямая сильная корреляция с концентрацией галектина-1 ($rs = 0,618$) и галектина-3 ($rs = 0,617$) в плазме крови.

Таким образом, у больных РТК в целом отмечалось возрастание количества $CD16$ -положительных моноцитов в крови по сравнению с группой здоровых добровольцев. При этом была установлена прямая сильная корреляция численности неклассической субпопуляции моноцитов с низкой степенью дифференцировки опухоли (G3), т.е. с большим потенциалом ее злокачественности. В качестве реципрокного изменения выявлялась обратная сильная связь между численностью классических моноцитов ($CD14^{+}CD16^{-}$) в крови и степенью дифференцировки опухоли ($rs = -0,469$; $p < 0,01$), содержанием галектина-1 ($rs = -0,663$; $p < 0,001$) и галектина-3 ($rs = -0,804$; $p < 0,001$) в плазме крови.

По результатам анализа субпопуляционного состава макрофагов в биоптатах опухолей у пациентов

с РТК и аденомами толстого кишечника межгрупповых различий по содержанию опухоль-ассоциированных $CD68^{+}CD80^{+}$ макрофагов (с фенотипом M1) не было выявлено. Количество $CD68^{+}CD206^{+}$ -экспрессирующих клеток (макрофагов с фенотипом M2d) у пациентов с раком толстой кишки оказалось в 1,9 раза ниже, чем у пациентов с аденомами (табл. 2). При этом у пациентов с аденомами толстой кишки в ткани опухоли отмечалось относительное преобладание M2d-субпопуляции макрофагов ($p = 0,030$), в то время как при РТК соотношение опухоль-ассоциированных M1- и M2d-макрофагов было сопоставимым.

Таблица 2

Субпопуляционный состав макрофагов в опухолевой ткани у пациентов с раком толстой кишки, $Me (Q_1; Q_3)$		
Иммунофенотип макрофагов, %	Рак толстой кишки	Аденомы толстой кишки
M1 ($CD68^{+}CD80^{+}$)	4,34 (1,80; 6,74)	4,26 (1,19; 6,53)
	$p = 0,454$	
M2d ($CD68^{+}CD206^{+}$)	3,21 (2,01; 4,79)	6,10 (3,97; 7,71)
	$p = 0,031$	

Пример изображения, полученного при окрашивании образцов опухолевой ткани, показан на рис. 2.

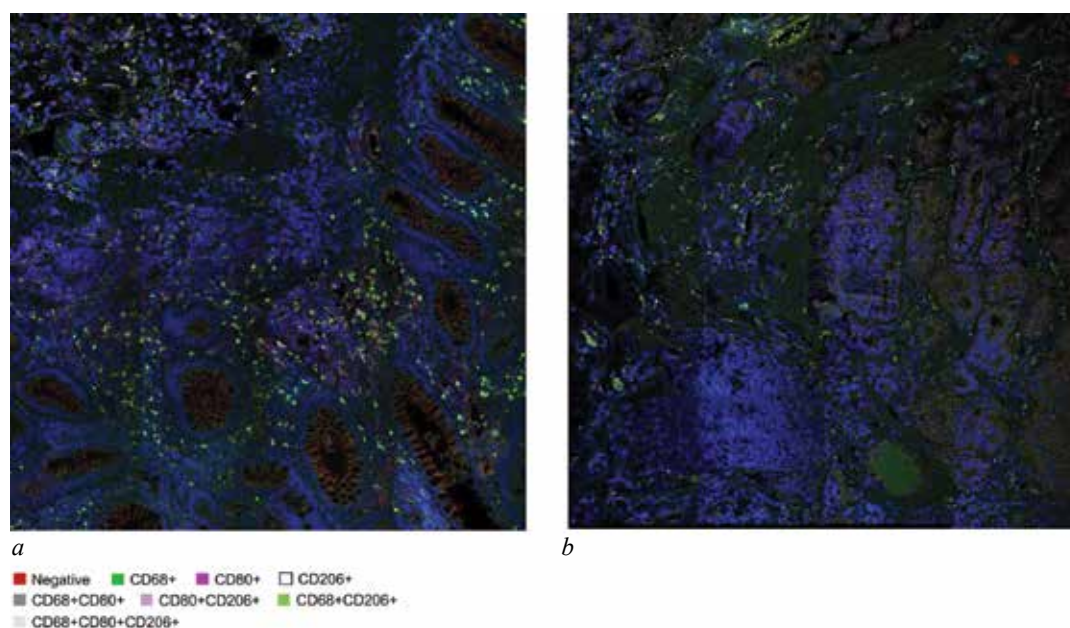


Рис. 2. Образец иммунофлюоресцентного окрашивания парафинового среза: *a* – при исследовании ткани аденомы: относительное количество M2-макрофагов ($CD68^{+}CD206^{+}$) – 2,6%, M1 ($CD68^{+}CD80^{+}$) – 5,4%; *b* – при исследовании ткани аденокарциномы: относительное количество M2d-макрофагов ($CD68^{+}CD206^{+}$) – 6%, M1 ($CD68^{+}CD80^{+}$) – 0,55%»

По результатам корреляционного анализа M1/M2-экспрессионного профиля опухоль-ассоциированных макрофагов и содержания галектинов 1 и 3 в периферической крови и опухолевой ткани статистически значимых взаимосвязей установлено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Галектины – семейство белков, экспрессируемых многими клетками, в том числе клетками самой опухоли [11]. Среди лектинов, вовлеченных в патогенез опухолевого процесса, особое внимание уделяется

галектину-1 и галектину-3 [12, 13]. Эти молекулы не только влияют на свойства самих опухолевых клеток, такие как способность к делению и метастазированию (отрыву от первичной опухоли, агрегации, адгезии, интра- и экстравазации, миграции и инвазии), программируемая клеточная смерть [14], но и участвуют во взаимодействии опухоли с иммунокомпетентными клетками по типу иммуносупрессии, что способствует «ускользанию» опухоли от факторов иммунного надзора [4]. Механизм этого эффекта заключается в связывании галектинов с CD-рецепторами на лейкоцитах, что регулирует поляризацию созревания, активацию и апоптоз этих клеток [15, 16]. В отношении макрофагального звена иммунной системы галектины 1 и 3 обладают преимущественно противовоспалительным и толерогенным (супрессивным) действием, направляя специализацию макрофагов по альтернативному пути M2 [17, 18]. Дифференцированные таким образом макрофаги, в свою очередь, сами активно синтезируют галектин-1 и галектин-3, в то время как классические M1-макрофаги, напротив, характеризуются низким уровнем экспрессии данных лектинов [19].

По сведениям Н.Н. Сарбаевой (2016), выделение двух полярных субпопуляций M1 и M2 не в полной мере характеризует разнообразие иммунофенотипов макрофагов ввиду их пластичности [20]. Макрофаги с противовоспалительным фенотипом M2 классифицируются на субпопуляции M2a, M2b, M2c и M2d. Основанием для такого рода различий между клетками служит набор экспрессируемых ими внутриклеточных и мембранных молекул (транскрипционных факторов, кластеров дифференцировки, рецепторов к цитокинам и хемокинам и др.), секретируемых цитокинов (преимущественно интерлейкина (IL) 10 и трансформирующего фактора роста β (TGF β)) и функций (фагоцитоз, активация роста клеток и процессов регенерации, поддержание гомеостаза тканей, поляризация иммунного ответа по пути Th2 (гуморальных) или Th17 (аутоиммунных) реакций, или Treg-опосредованной иммуносупрессии, и др.). В соответствии с данными литературы, макрофаги, экспрессирующие маркеры CD68 и CD206 (т.е. имеющие M2d-фенотип), способствуют опухолевому росту, ангиогенезу (в том числе васкуляризации опухолевых образований посредством продукции проангиогенных медиаторов) и ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса [21, 22].

Галектины 1 и 3 служат хемоаттрактантами для вновь рекрутируемых в опухолевый очаг моноцитов, тем самым формируется порочный круг, что способствует прогрессии новообразования [17, 23]. Есть данные о том, что галектин-1 способствует M2-поля-

ризации макрофагов, регулируя метаболизм аргинина и снижая выработку оксида азота [24].

По результатам проведенного исследования, у пациентов с РТК обнаруживалась незначительная тенденция к увеличению процентного количества M1-активированных макрофагов по сравнению с таковым у больных аденомами толстой кишки. Данный результат, по-видимому, обусловлен участием процесса воспаления в механизмах злокачественного роста опухоли. Известно, что воспаление может как предшествовать развитию колит-ассоциированного РТК, так и сопровождать формирование и прогрессию опухоли, не имеющей связи с колитом. Сформировавшаяся на фоне хронического воспаления опухоль толстой кишки морфологически характеризуется выраженной инфильтрацией иммунокомпетентными клетками, которые, в свою очередь, являются источниками про- и противотуморогенных и воспалительных цитокинов [25].

При доброкачественном процессе (аденоме) толстой кишки нами был установлен, напротив, дисбаланс соотношения M1/M2-макрофагов по пути доминирования M2d-субпопуляции, что, по мнению многих авторов, характерно в большей степени для злокачественных новообразований [26–28]. Интерпретируя полученные результаты, следует отметить, что в большинстве работ авторы определяют иммунофенотип опухоль-ассоциированных макрофагов в сравнении с образцами здоровых тканей. В нашем исследовании мы оценивали соотношение M1- и M2-макрофагов при РТК по сравнению с их численностью у пациентов с аденомами толстой кишки.

Следует отметить, что разделение макрофагов на полярные субпопуляции – M1 и M2 в большей степени соответствует условиям *in vitro* и не отражает в полной мере гетерогенность популяции этих клеток *in vivo*. Маркеры, определяющие иммунофенотипы M1 и M2, могут быть одновременно экспрессированы на одной клетке. Так, макрофаги кожных ран человека наряду с цитокинами, характерными для M1, синтезируют IL-10, а также несут на своей мембране CD206, CD163, CD36 и рецептор к IL-4 [29]. Описана вероятность прямой и обратной трансформации иммунофенотипов M1 и M2 при изменении спектра секретируемых цитокинов и эффероцитоза (процесса «захоронения мертвых клеток» – удаления апоптотических клеток путем фагоцитоза) [30, 31].

Вместе с тем следует констатировать отсутствие стандартизированных методов количественной оценки макрофагов и существенные различия в протоколах их иммунофлуоресцентного типирования [32]. Для оценки субпопуляционного состава макрофагов исследователи используют различные сочетания по-

верхностных маркеров [33–35] ввиду отсутствия высокоспецифичных факторов. В нашем исследовании для нивелирования субъективного компонента оценки мы применяли программное обеспечение QuPath, позволяющее автоматизировать подсчет клеток или исключить «опухолевую» составляющую из анализа и оценить только клетки микроокружения опухоли.

Известно, что пул опухоль-ассоциированных макрофагов, иммуносупрессорных клеток миелоидного происхождения, иммуногенных и толерогенных дендритных клеток популяция пополняется путем миграции в ткани моноцитов, имеющих костномозговое происхождение. При этом влияние опухоли на моноциты может проявляться не только в опухолевом очаге, но и непосредственно на уровне их предшественников в костном мозге или селезенке. В свою очередь, сами моноциты вырабатывают цитокины и хемокины, тем самым принимая участие в рекрутировании новых клеток иммунной системы в опухолевый очаг и поддерживая процесс воспаления [8].

По мнению одних исследователей, свойства макрофагов ткани определяются статусом моноцитов крови, другие заявляют о неоднозначной роли моноцитов в формировании иммунофенотипов макрофагов [8, 30], а дифференцировка зависит от взаимодействия клеток с элементами микроокружения и опосредовано факторами роста, компонентами внеклеточного матрикса и др. [23]. Галектин-1 является индуктором хемотаксиса моноцитов и может модулировать экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости и рецепторов типа FcγRI, опосредующих фагоцитоз [28].

В настоящем исследовании было выдвинуто предположение о том, что галектины 1 и 3 способны оказывать влияние на направление дифференцировки моноцитов как предшественников опухоль-ассоциированных макрофагов. Согласно полученным нами результатам, у пациентов с раком толстого кишечника регистрировалось снижение содержания классической субпопуляции моноцитов в крови, в то время как число клеток с альтернативными иммунофенотипами – неклассическим и переходным – было повышенным.

Согласно данным литературы, увеличение количества циркулирующих неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ моноцитов может быть связано с их специфической функцией в отношении синтеза факторов роста, а промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺ моноцитов – с продукцией фактора некроза опухоли альфа (TNFα), который выступает в качестве медиатора опухоль-ассоциированного воспаления [29]. Установленная в нашем исследовании положительная связь между высоким содержанием галектина-1

и галектина-3 и увеличением числа неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ и промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺ моноцитов в крови свидетельствует о вероятном влиянии данных лектинов на формирование субпопуляций моноцитов в направлении CD16-позитивных клеток.

Полученные нами результаты не были связаны с клинико-морфологическими параметрами опухоли, полом и возрастом пациентов. Мы полагаем, что это объясняется изменчивостью течения основного заболевания и многообразием его клинических проявлений, которые зависят от расположения первичного опухолевого узла, характера роста новообразования, наличия осложнений, степени выраженности связанных с воспалением проявлений альтерации, сопровождающих опухолевый процесс, и других факторов.

Отсутствие взаимосвязи между содержанием галектинов 1 и 3 в крови и в опухоли с M1/M2-экспрессионным профилем опухоль-ассоциированных макрофагов у больных раком толстого кишечника, с одной стороны, указывает на то, что галактозид-связывающие белки не обладают значимым дистантным и локальным влиянием на созревание и функциональную специализацию тканевых макрофагов. С другой стороны, это может быть связано с недостаточным объемом выборки, что требует дальнейших более детальных исследований с увеличением количества выборочных данных и расширением спектра тестируемых регуляторных биомолекул, способных поляризовать дифференцировку миелоидных клеток в опухолевом микроокружении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено галектин-1,3-зависимое изменение субпопуляционного состава моноцитов вследствие снижения числа классических CD14⁺⁺CD16[–] клеток и увеличения количества неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ и переходных CD14⁺CD16[–] клеток в периферической крови у больных раком толстой кишки. При этом избыточное содержание галектин-1-экспрессирующих клеток в опухолевой ткани и высокая концентрация галектинов 1 и 3 в плазме крови не влияют на соотношение M1 (CD68⁺CD80⁺) и M2d (CD68⁺CD206⁺) опухоль-ассоциированных макрофагов.

Детальное изучение иммунорегуляторного действия галектинов на отдельные субпопуляции моноцитов крови и тканевых макрофагов открывает перспективы использования данных лектинов в качестве новых биомаркеров РТК и молекулярных мишеней для инновационных методов таргетной и иммунной (путем перепрограммирования клеток опухолевого микроокружения) терапии злокачественных новообразований 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. Siegel R.L., Wagle N.S., Cercek A., Smith R.A., Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J. Clin.* 2023;73(3):233–254. DOI: 10.3322/caac.21772.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022:239.
4. Чердынцева Н.В., Митрофанова И.В., Булдаков М.А., Стахеева М.Н., Патышева М.Р., Завьялова М.В. и др. Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофаг-специфичной терапии. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017;16(4):61–74.
5. Chou F.C., Chen H.Y., Kuo C.C., Sytwu H.K. Role of galectins in tumors and in clinical immunotherapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(2):430. DOI: 10.3390/ijms19020430.
6. Orozco C.A., Martinez-Bosch N., Guerrero P.E., Vinaixa J., Dalotto-Moreno T., Iglesias M. et al. Targeting galectin-1 inhibits pancreatic cancer progression by modulating tumor-stroma crosstalk. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(16):e3769–778. DOI: 10.1073/pnas.1722434115.
7. Lin Y.H., Qiu D.C., Chang W.H., Yeh Y.Q., Jeng U.S., Liu F.T. et al. The intrinsically disordered N-terminal domain of galectin-3 dynamically mediates multisite self-association of the protein through fuzzy interactions. *J. Biol. Chem.* 2017;292(43):17845–17856. DOI: 10.1074/jbc.M117.802793.
8. Патышева М.Р., Стахеева М.Н., Ларионова И.В., Тарабановская Н.А., Григорьева Е.С., Слонимская Е.М. и др. Моноциты при злокачественных новообразованиях: перспективы и точки приложения для диагностики и терапии. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019;18(1):60–75. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-60-75.
9. Zwager M.C., Bense R., Waaijer S., Qiu S.Q., Timmer-Bosscha H., de Vries E.G.E. et al. Assessing the role of tumour-associated macrophage subsets in breast cancer subtypes using digital image analysis. *Breast Cancer Res. Treat.* 2023;198(1):11–22. DOI: 10.1007/s10549-022-06859-y.
10. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Полетика В.С., Рейнгардт Г.В., Романова Е.В., Курносенко А.В. и др. Особенности экспрессии галектинов 1 и 3 при раке толстого кишечника во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами опухоли. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2021;6(4):45–53.
11. Ge X.N., Ha S.G., Liu F.T., Rao S.P., Sriramaraio P. Eosinophil-expressed galectin-3 regulates cell trafficking and migration. *Front. Pharmacol.* 2013;4:37. DOI: 10.3389/fphar.2013.00037.
12. Cornejo-García J.A., Romano A., Guéant-Rodríguez R.M., Oussalah A., Blanca-López N., Gaeta F. et al. A non-synonymous polymorphism in galectin-3 lectin domain is associated with allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Pharmacogenomics J.* 2016;16(1):79–82. DOI: 10.1038/tpj.2015.24.
13. Chetry M., Thapa S., Hu X., Song Y., Zhang J., Zhu H. et al. The role of galectins in tumor progression, treatment and prognosis of gynecological cancers. *J. Cancer.* 2018;9(24):4742–4755. DOI: 10.7150/jca.23628.
14. Ito K., Stannard K., Gabutero E., Clark A.M., Neo S.Y., Onturk S. et al. Galectin-1 as a potent target for cancer therapy: role in the tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev.* 2012;31(3–4):763–778. DOI: 10.1007/s10555-012-9388-2.
15. Iqbal A.J., Sampaio A.L.F., Maione F., Greco K.V., Niki T., Hirashima M. et al. Endogenous galectin-1 and acute inflammation: emerging notion of a galectin-9 pro-resolving effect. *Am. J. Pathol.* 2011;178(3):1201–1209. DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.073.
16. Rabinovich G.A., Conejo-García J.R. Shaping the immune landscape in cancer by galectin-driven regulatory pathways. *J. Mol. Biol.* 2016;428(16):3266–3281. DOI: 10.1016/j.jmb.2016.03.021.
17. Якушина В.Д., Васильева О.А., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Савельева О.Е., Прохоренко Т.С. и др. Галектин-1: роль в формировании особенностей врожденного и приобретенного иммунитета. *Медицинская иммунология.* 2012;14(1-2):21–32. DOI: 10.15789/1563-0625-2012-1-2-21-32.
18. Kianoush F., Nematollahi M., Waterfield J.D., Brunette D.M. Regulation of RAW264.7 macrophage polarization on smooth and rough surface topographies by galectin-3. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2017;105(9):2499–2509. DOI: 10.1002/jbm.a.36107.
19. Novak R., Dabelic S., Dumic J. Galectin-1 and galectin-3 expression profiles in classically and alternatively activated human macrophages. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012;1820(9):1383–1390. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.11.014.
20. Dragomir A.C.D., Sun R., Choi H., Laskin J.D., Laskin D.L. Role of galectin-3 in classical and alternative macrophage activation in the liver following acetaminophen intoxication. *J. Immunol.* 2012;189(12):5934–5941. DOI: 10.4049/jimmunol.1201851.
21. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами. *Гены и клетки.* 2016;11(1):9–17. DOI: 10.23868/gc120550.
22. Капитанова К.С., Науменко В.А., Гаранина А.С., Мельников П.А., Абакумов М.А., Алиева И.Б. Перспективы использования наночастиц для репрограммирования опухолевых макрофагов в иммунотерапии злокачественных новообразований. *Биохимия.* 2019;84(7):934–952. DOI: 10.1134/S0320972519070054.
23. Жгулева А.С., Зементова М.С., Сельков С.А., Соколов Д.И. Макрофаги M1/M2: происхождение, фенотип, способы получения, взаимодействие с естественными киллерами и трофобластом. *Медицинская иммунология.* 2024;26(3):425–448. DOI: 10.15789/1563-0625-ММО-2877.
24. Correa S.G., Sotomayor C.E., Aoki M.P., Maldonado C.A., Rabinovich G.A. Opposite effects of galectin-1 on alternative metabolic pathways of L-arginine in resident, inflammatory, and activated macrophages. *Glycobiology.* 2003;13(2):119–128. DOI: 10.1093/glycob/cwg010.
25. Грачев А.Н., Самойлова Д.В., Рашидова М.А., Петренко А.А., Ковалева О.В. Макрофаги, ассоциированные с

- опухолью: современное состояние исследований и перспективы клинического использования. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018;5(4):20–28.
26. Barrionuevo P., Beigier-Bompadre M., Ilarregui J.M., Toscano M.A., Bianco G.A., Isturiz M.A. et al. A novel function for galectin-1 at the crossroad of innate and adaptive immunity: galectin-1 regulates monocyte/macrophage physiology through a nonapoptotic ERK-dependent pathway. *J. Immunol.* 2007;178(1):436–445. DOI: 10.4049/jimmunol.178.1.436.
 27. Baran B., Bechthold I., Siedlar M., Szpak K., Mytar B., Sroka J. et al. Blood monocytes stimulate migration of human pancreatic carcinoma cells *in vitro*: the role of tumour necrosis factor- α . *Eur. J. Cell Biol.* 2009;88(12):743–752. DOI: 10.1016/j.ejcb.2009.08.002.
 28. Wu K., Lin K., Li X., Yuan X., Xu P., Ni P. et al. Redefining tumor-associated macrophage subpopulations and functions in the tumor microenvironment. *Front. Immunol.* 2020;11:1731. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01731.
 29. Sindrilaru A., Peters T., Wieschalka S., Baican C., Baican A., Peter H. et al. An unrestrained proinflammatory M1 macrophage population induced by iron impairs wound healing in humans and mice. *J. Clin. Invest.* 2011;121(3):985–997. DOI: 10.1172/JCI44490.
 30. Gong D., Shi W., Yi S., Chen H., Groffen J., Heisterkamp N. TGF β signaling plays a critical role in promoting alternative macrophage activation. *BMC Immunol.* 2012;13:31. DOI: 10.1186/1471-2172-13-31.
 31. Bill R., Wirapati P., Messemaker M., Roh W., Zitti B., Duval F. et al. CXCL9:SPP1 macrophage polarity identifies a network of cellular programs that control human cancers. *Science*. 2023;381(6657):515–524. DOI: 10.1126/science.ade2292.
 32. Jayasingam S.D., Citartan M., Thang T.H., Mat Zin A.A., Ang K.C., Ch'ng E.S. Evaluating the polarization of tumor-associated macrophages into M1 and M2 phenotypes in human cancer tissue: technicalities and challenges in routine clinical practice. *Front. Oncol.* 2020;24(9):1512. DOI: 10.3389/fonc.2019.01512.
 33. Dunstan R.W., Wharton K.A., Quigley C., Lowe A. The use of immunohistochemistry for biomarker assessment – can it compete with other technologies? *Toxicol. Pathol.* 2011;39(6):988–1002. DOI: 10.1177/0192623311419163.
 34. Da C., Mc K., Va M., An O., Yv B. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Lab. Invest.* 2017;97(1):4–13. DOI: 10.1038/labinvest.2016.116.
 35. Fan W., Yang X., Huang F., Tong X., Zhu L. The Second Clinical Medical College ZCMU. Identification of CD206 as a potential biomarker of cancer stem-like cells and therapeutic agent in liver cancer. *Oncology Letters*. 2019;18(3):3218–3226. DOI: 10.3892/ol.2019.10673.

Вклад авторов

Курносенко А.В., Рейнгардт Г.В., Гамирова К.А. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Полетика В.С., Грищенко М.Ю., Чурина Е.Г. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование цели, основных положений и заключения рукописи. Колобовникова Ю.В., Чумакова С.П., Уразова О.И. – проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации. Все члены группы отвечают критериям и требованиям для авторов.

Информация об авторах

Курносенко Анна Васильевна – аспирант, кафедра патофизиологии, СибГМУ; врач-онколог, ТООД, г. Томск, kurnosenko.av@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3210-0298>

Рейнгардт Глеб Вадимович – ассистент, кафедра патофизиологии, СибГМУ; врач-онколог, ТООД, г. Томск, glebreynardt@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3148-0900>

Полетика Вадим Сергеевич – канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, vpoletika@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2005-305X>

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>

Чумакова Светлана Петровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ, г. Томск, chumakova_s@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, urazova.oi@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Грищенко Максим Юрьевич – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф, СибГМУ; гл. врач, ТООД, г. Томск, grischenko.mj@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0961-7336>

Чурина Елена Георгиевна – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, lena1236@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8509-9921>

Гамирова Кристина Анатольевна – аспирант, кафедра организации здравоохранения и общественного здоровья, СибГМУ; врач-онколог, ТООД, г. Томск, k.a.gamirova@tomonco.ru, <http://orcid.org/0009-0007-7947-360X>

(✉) Курносенко Анна Васильевна, kurnosenko.av@ssmu.ru

Поступила в редакцию 19.07.2024;
одобрена после рецензирования 09.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616.98:578.834.1]-082.4-037-036.88
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-64-73>

Предикторы летального исхода у госпитализированных пациентов с COVID-19

Малиновский В.А., Федосенко С.В., Семакин А.В., Диркс И.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л., Винокурова Д.А., Старовойтова Е.А., Агаева С.А., Нестерович С.В., Калюжин В.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Установить клинико-лабораторные факторы, ассоциированные с тяжелым течением и летальностью у госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19).

Материалы и методы. Проведено ретроспективное сравнительное исследование по данным 745 взрослых пациентов, госпитализированных с COVID-19 с 16.05.2020 по 30.09.2020 (Томск, Россия). Выполнено межгрупповое сравнение показателей, ROC-анализ, определение отношения шансов для оценки связи между факторами риска и исходом.

Результаты. С летальным исходом (ЛИ) ассоциированы возраст старше 62 лет, пневмония в течение года до COVID-19, наличие ≥ 3 сопутствующих патологий. Негативные предикторы исхода на момент госпитализации: одышка, диастолическое давление ≤ 80 и пульсовое давление более 48 мм рт. ст., SpO_2 менее 94% (и (или) снижение за госпитализацию до $\leq 89\%$). Лабораторные предикторы ЛИ при госпитализации: тромбоциты $\leq 183 \times 10^9/л$, нейтрофилы более $4,57 \times 10^9/л$, лимфоциты $\leq 1,08 \times 10^9/л$, нейтрофильно-лимфоцитарное отношение более 4,8, аспартатаминотрансфераза более 39 ЕД/л, мочевины более 6,75 ммоль/л, лактатдегидрогеназа более 219 ЕД/л, альбумин крови ≤ 38 г/л, С-реактивный белок (СРБ) более 47 мг/л. При достижении пороговых значений в любой из периодов госпитализации с ЛИ ассоциировались: уровень СРБ в крови более 38 мг/л, ферритина более 648,6 мкг/л, D-димера более 731,11 нг/мл, лейкоцитов более $14,27 \times 10^9/л$, лимфоцитов $\leq 0,73 \times 10^9/л$, продолжительность оксигенотерапии более 3 сут, необходимость неинвазивной и инвазивной вентиляции легких ≥ 1 сут, потребность назначения глюкокортикостероидов более 1 сут, достижение общей курсовой дозы более 6 г по дексаметазону.

Заключение. Выявлены факторы, ассоциированные с ЛИ у госпитализированных пациентов с COVID-19.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, биомаркеры, предикторы тяжелого течения, предикторы летального исхода

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8511 от 21.12.2020).

Для цитирования: Малиновский В.А., Федосенко С.В., Семакин А.В., Диркс И.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л., Винокурова Д.А., Старовойтова Е.А., Агаева С.А., Нестерович С.В., Калюжин В.В. Предикторы летального исхода у госпитализированных пациентов с COVID-19. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):64–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-64-73>.

Predictors of mortality in hospitalized patients with COVID-19

Malinovskiy V.A., Fedosenko S.V., Semakin A.V., Dirks I.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Vinokurova D.A., Starovoitova E.A., Agaeva S.A., Nesterovich S.V., Kalyuzhin V.V.

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

ABSTRACT

Aim. To determine clinical and laboratory factors associated with a severe course and lethality in hospitalized patients with COVID-19.

Materials and methods. A retrospective comparative study included data of 745 adult patients hospitalized with COVID-19 from 16.05.2020 to 30.09.2020 (Tomsk, Russia). The intergroup comparison of indices, ROC analysis, and determination of odds ratio to assess the association between risk factors and the outcome were performed.

Results. Age > 62 years, pneumonia within a year before COVID-19, and the presence of ≥ 3 comorbidities were associated with a fatal outcome (FO). Negative predictors of the outcome at the time of hospitalization included dyspnea, diastolic blood pressure ≤ 80 and pulse pressure > 48 mmHg, $SpO_2 < 94\%$ (and/or a decrease to $\leq 89\%$ throughout hospitalization). Laboratory predictors of FO at admission were platelets $\leq 183 \times 10^9 / l$, neutrophils $> 4.57 \times 10^9 / l$, lymphocytes $\leq 1.08 \times 10^9 / l$, neutrophil-to-lymphocyte ratio > 4.8, aspartate aminotransferase > 39 U / l, urea > 6.75 mmol / l, lactate dehydrogenase > 219 U / l, blood albumin $\leq 38 g / l$, C-reactive protein (CRP) > 47 mg / l. When threshold values were reached during any of the hospitalization periods, FO was associated with CRP > 38 mg / l, ferritin > 648.6 $\mu g / l$, D-dimer > 731.11 ng / ml, white blood cells > $14.27 \times 10^9 / l$, lymphocytes $\leq 0.73 \times 10^9 / l$, duration of oxygen therapy > 3 days, need for non-invasive and invasive ventilation ≥ 1 day, need for glucocorticoid administration > 1 day, reaching a total course dose > 6 mg for dexamethasone.

Conclusion. The factors associated with FO in hospitalized patients with COVID-19 were identified.

Keywords: novel coronavirus infection, COVID-19, biomarkers, predictors of severe disease, predictors of mortality

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8511 of 21.12.2020).

For citation: Malinovskiy V.A., Fedosenko S.V., Semakin A.V., Dirks I.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Vinokurova D.A., Starovoitova E.A., Agaeva S.A., Nesterovich S.V., Kalyuzhin V.V. Predictors of mortality in hospitalized patients with COVID-19. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):64–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-64-73>.

ВВЕДЕНИЕ

Вспышка новой коронавирусной инфекции (НКИ, COVID-19) в конце 2019 г. в Китайской Народной Республике дала начало пандемии, которая нанесла огромный социально-экономический ущерб и продлилась более 3 лет. Первые волны пандемии характеризовались недостаточной готовностью и беспрецедентным коллапсом системы здравоохранения по всему миру, использованием лекарств с недостаточной доказательной эффективностью.

По состоянию на декабрь 2023 г. в мире зарегистрировано более 772 млн подтвержденных случаев заболевания и более 6,9 млн случаев смерти. Соглас-

но данным метаанализа 2022 г., самые высокие показатели кумулятивной избыточной смертности от НКИ зарегистрированы в Индии (4,07 млн), США (1,13 млн) и России (1,07 млн) [1].

Несмотря на действующие программы вакцинации, появление модифицированных вариантов вируса с менее опасным характером течения заболевания, распространение новых штаммов по всему миру сохраняет актуальной задачу борьбы с COVID-19. По мере получения большего количества данных проводится анализ, направленный на выявление уникальных биомаркеров, которые могут коррелировать с тяжестью COVID-19 и неблагоприятными исходами, с целью оказания надлежащей

медицинской помощи и снижения нагрузки на систему здравоохранения.

Целью данного исследования стало выявление клинико-лабораторных предикторов, увеличивающих шанс тяжелого течения и летальности пациентов с COVID-19 на раннем этапе госпитализации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнено ретроспективное сравнительное исследование, применен сплошной способ формирования выборки. В исследование включены данные медицинской документации 745 взрослых пациентов (мужчин 343 (46,0%) и женщин 402 (54,0%)) с подтвержденным методом полимеразной цепной реакции диагнозом COVID-19, проходивших лечение в респираторном госпитале (РГ) на базе клиник ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) в период с 16.05.2020 по 30.09.2020 (период циркуляции «дикого» штамма SARS-CoV-2 в России). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8511 от 21.12.2020).

Для всех пациентов РГ, согласно утвержденному алгоритму, выполнялся сбор данных анамнеза, результатов объективного осмотра, лабораторных и инструментальных исследований в первые 48 ч с момента госпитализации с целью их динамической оценки и определения связи с исходом госпитализации. В зависимости от исхода госпитализации ретроспективно сформированы две сравниваемые группы. Основную группу составили пациенты, завершившие госпитализацию выпиской из стационара («выжившие», $n = 683$), группу сравнения – пациенты с летальным исходом (ЛИ, «умершие», $n = 62$).

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи пакета статистических программ Statistica 12 (StatSoft Inc., США), MedCalc 22.009 (Copy®MedCalc SoftWare Ltd., Бельгия) и Microsoft® Excel® 2016 MSO (v. 2309 16.0.16827.20166, США). Описание количественных показателей проведено с указанием медианы интерквартильного размаха Me (Q_{25} ; Q_{75}). Качественные показатели описаны с указанием абсолютных и относительных частот (n (%)). Межгрупповое сравнение количественных показателей проводилось с использованием непараметрического статистического критерия – U -критерия Манна – Уитни, качественных – критерия χ^2 Пирсона.

Количественная оценка связи между определенным исходом заболевания и наличием фактора риска в выборке проводилась с использованием отношения шансов (OR). Результаты представлены в виде отношения шансов и границ 95%-го доверительного

интервала (95% ДИ). Результаты считались статистически значимыми, если 95% ДИ не содержал 1. Кроме того, была проведена оценка влияния факторов на шанс ЛИ с помощью ROC-анализа. Оценивалась площадь под кривой (AUC) с 95% ДИ, точка разделения по критерию Йодена, чувствительность и специфичность для этой точки. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Демографические и анамнестические факторы, характеризующие пациентов. Возраст в группе выживших пациентов составил 57 (43; 67) лет, в группе умерших – 73 (66; 81) года ($p < 0,001$). При этом возраст пациентов более 62 лет (AUC 0,804 (0,774; 0,832), $p < 0,001$) является фактором неблагоприятного исхода с чувствительностью 85,5% и специфичностью 65,6%.

Сравниваемые группы пациентов статистически значимо не отличались по гендерному распределению: основная группа – 316 мужчин (46,3%), 367 женщин (53,7%), группа сравнения – 27 мужчин (43,5%), 35 женщин (56,5%), $p = 0,681$. При этом пол пациентов также не влиял статистически значимо на исход госпитализации (OR 1,1 (0,7; 1,9)). Продолжительность болезни до госпитализации составила 6 (3; 9) сут в основной группе и 5 (1,5; 7,0) в группе сравнения ($p = 0,011$). По данным анализа, пневмония, перенесенная пациентами в год, предшествующий COVID-19, увеличивала шанс ЛИ почти в 15 раз (OR 14,9 (3,6; 61,6)).

В рамках амбулаторного лечения COVID-19 пациенты получали разнообразные группы лекарственных средств. В анализ включены записи только тех пациентов, для которых удалось уточнить данные приема препаратов на догоспитальном этапе. Так, антибактериальные препараты амбулаторно принимали 117 (17,1% из 683) больных основной группы и 10 (16,1% из 62) впоследствии умерших пациентов ($p = 0,840$), противовирусные препараты – 8 (36,4% из 22) больных из группы умерших и 146 (90,1% из 162) пациентов из основной группы ($p < 0,001$), нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – 8 (34,8% из 23) умерших и 82 (82% из 100) выживших больных. Прием противовирусных препаратов (умифеновир, интерферон альфа-2b, интерферон бета-1b, имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты, ритонавир + лопинавир, тилорон, римантадин, осельтамивир, меглюмина акридонацетат, кагоцел) и НПВП на догоспитальном этапе был ассоциирован со снижением шанса ЛИ примерно в 16 (OR 0,06 (0,02; 0,17)) и 9 (OR 0,11 (0,04; 0,32)) раз соответственно ($p < 0,050$).

На основании анализа сопутствующих заболеваний пациентов были сформированы группы заболеваний, увеличивающие шанс ЛИ и не влияющие на него. Так, к заболеваниям, повышающим шанс ЛИ, следует отнести ишемическую болезнь сердца – в 8 раз, эссенциальную артериальную гипертензию – в 5, сахарный диабет – в 2, хроническую сердечную недостаточность – в 5, анемию – в 4, цирроз печени – в 11, снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73 м² по СКД-ЕРІ – в 11, нарушение мозгового кровообращения в анамне-

зе – в 9, алкоголизм – в 9, пролежни – в 9, сопутствующее онкологическое заболевание – в 6, неврологические расстройства – в 5 раз. Вторую группу составили заболевания, не увеличивавшие шанс ЛИ: бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, заболевания печени, кроме цирроза, заболевания почек без снижения СКФ, наркомания (табл. 1).

В целом наличие не менее трех сопутствующих патологий ассоциировалось с наступлением ЛИ (AUC 0,821 (0,792; 0,848), $p < 0,001$) с чувствительностью 83,9% и специфичностью 64,3%.

Таблица 1

Характеристика коморбидной патологии пациентов				
Показатель	Основная группа (выжившие), n (%)	Группа сравнения (умершие), n (%)	p	OR (95% ДИ), $Me (Q_{25}; Q_{75})$
ИБС	160 (23,4%)	44 (71,0%)	<0,001	7,99 (4,49; 14,28)
Гипертоническая болезнь	386 (56,5%)	54 (87,1%)	<0,001	5,19 (2,43; 11,08)
Сахарный диабет	107 (15,7%)	16 (25,8%)	0,039	1,87 (1,02; 3,43)
ХСН	147 (21,5%)	36 (58,1%)	<0,001	5,05 (2,95; 8,63)
Бронхиальная астма	29 (4,3%)	3 (4,8%)	0,830	1,15 (0,34; 3,88)
ХОБЛ	27 (4,0%)	5 (8,1%)	0,127	2,13 (0,79; 5,74)
Анемия	37 (5,4%)	11 (17,8%)	0,001	3,76 (1,81; 7,81)
Цирроз печени	2 (0,3%)	2 (3,2%)	0,003	11,35 (1,57; 82,02)
Другие заболевания печени	30 (4,4%)	5 (8,1%)	0,191	1,91 (0,71; 5,11)
ВИЧ-инфекция	5 (0,7%)	2 (3,2%)	0,051	4,52 (0,86; 23,80)
Заболевания почек	223 (32,7%)	26 (41,9%)	0,138	1,49 (0,88; 2,53)
СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м ²	50 (7,3%)	29 (46,8%)	<0,001	11,13 (6,25; 19,79)
Инъекционная наркомания	1 (0,2%)	1 (1,6%)	0,328	11,16 (0,70; 180,71)
ОНМК в анамнезе	20 (2,9%)	13 (21,0%)	<0,001	8,78 (4,12; 18,71)
Алкоголизм	4 (0,6%)	3 (4,8%)	0,001	8,61 (1,88; 39,37)
Пролежни	5 (0,7%)	4 (6,5%)	0,001	9,34 (2,44; 35,73)
Онкопатология	30 (4,4%)	14 (22,6%)	<0,001	6,34 (3,15; 12,75)
Неврологические заболевания	132 (19,3%)	35 (56,5%)	<0,001	5,41 (3,16; 9,26)

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения. OR – отношения шансов. p – статистическая значимость межгрупповых различий. 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

Жалобы пациентов и данные объективного обследования при поступлении в РГ. Выделены симптомы, с которыми больные поступали в РГ, влияющие на шанс ЛИ. Так, одышка, беспокоившая 28,4% выписанных больных и 62,0% умерших пациентов ($p < 0,001$), связана с более высоким шансом ЛИ, а наличие аносмии и головной боли, напротив, с более низким шансом – OR 4,11 (2,30; 7,50); 0,08 (0,01; 0,57) и 0,51 (0,26; 0,99) соответственно. Доля пациентов с головной болью составила 37,6 и 23,5% среди выживших и умерших пациентов соответственно ($p = 0,044$), а аносмия почти в 10,5 раз реже встречалась в группе умерших пациентов (2%) по сравнению с выжившими (20,5%, $p = 0,001$). Такие симптомы, как кашель, продукция гнойной мокроты, лихорадка, боль в груди, общая слабость, озноб, миалгия и диарея, не ассоциировались значимо с ЛИ в сравниваемых группах ($p > 0,05$).

Летальный исход в период госпитализации также был ассоциирован со следующими результатами объективного исследования на момент поступления в РГ: уровнем диастолического давления ≤ 80 мм рт. ст. (AUC 0,603 (0,567; 0,639), $p = 0,005$) с чувствительностью 78,7% и специфичностью 38,3%; значением пульсового давления более 48 мм рт. ст. (AUC 0,581 (0,544; 0,616), $p = 0,048$) с чувствительностью 64,5% и специфичностью 56,4%; частотой дыхательных движений более 19 в 1 мин (AUC 0,704 (0,670; 0,737), $p < 0,001$) с чувствительностью 44,3% и специфичностью 91,9%; уровнем насыщения крови кислородом (SpO₂), измеренным методом пульсоксиметрии, менее 94% (AUC 0,751 (0,718; 0,782), $p < 0,001$) с чувствительностью 64,5% и специфичностью 73,0%. Отметим, что падение величины SpO₂ за период госпитализации до отметки $\leq 89\%$ также ассоциировано с наступлением ЛИ (AUC 0,859 (0,831; 0,884), $p < 0,0001$).

с чувствительностью 77,8% и специфичностью 84,6%. Шанс ЛИ повышался, если у пациентов с COVID-19 при поступлении регистрировались такие аускультативные признаки, как ослабление дыхания с OR 2,06 (1,15; 3,70) и влажные хрипы с OR 3,96 (1,51; 10,37).

Лабораторные показатели за период госпитализации. Среди показателей гемограммы при поступлении в РГ к статистически значимым предикторам, ассоциированным с ЛИ, следует выделить:

1) уровень тромбоцитов $\leq 183 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,673 (0,638; 0,708), $p = 0,001$) с чувствительностью 61,7% и специфичностью 71,8%;

2) уровень нейтрофилов более $4,57 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,696 (0,660; 0,730), $p < 0,001$) с чувствительностью 63,8% и специфичностью 72,4%;

3) уровень лимфоцитов $\leq 1,08 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,768 (0,735; 0,798), $p < 0,001$) с чувствительностью 70,2% и специфичностью 70,3%;

4) нейтрофильно-лейкоцитарное отношение более 4,8 (AUC 0,774 (0,741; 0,804), $p < 0,001$) с чувствительностью 66,0% и специфичностью 80,7%.

При анализе изменений показателей гемограммы за весь период госпитализации повышение уровня лейкоцитов более $14,27 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,855 (0,827; 0,880), $p < 0,001$ с чувствительностью 70,0% и специфичностью 90,0%) и снижение лимфоцитов $\leq 0,73 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,878 (0,852; 0,901), $p < 0,001$ с чувствительностью 85,0% и специфичностью 82,3%) также являлись предикторами неблагоприятного исхода заболевания (табл. 2).

Таблица 2

Гематологические показатели					
Показатель	AUC, Me (Q_{25} ; Q_{75})	p	Точка разделения	Чувствительность, %	Специфичность, %
Тромбоциты, тыс./мкл	0,673 (0,638; 0,708)	0,001	≤ 183	61,7	71,8
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,615 (0,578; 0,650)	0,028	$> 7,71$	48,0	81,1
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,696 (0,660; 0,730)	$< 0,001$	$> 4,57$	63,8	72,4
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,768 (0,735; 0,798)	$< 0,001$	$\leq 1,08$	70,2	70,3
Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение	0,774 (0,741; 0,804)	$< 0,001$	$> 4,80$	66,0	80,7
Лейкоциты (максимальный уровень)	0,855 (0,827; 0,880)	$< 0,001$	$> 14,27$	70,0	90,0
Лимфоциты (минимальный уровень)	0,878 (0,852; 0,901)	$< 0,001$	$\leq 0,73$	85,0	82,3

Примечание. Здесь и в табл. 3: AUC – площадь под кривой. p – уровень значимости.

Среди биохимических показателей при поступлении статистически значимыми предикторами, ассоциированными с ЛИ, зарегистрированы:

1) уровень аспартатаминотрансферазы более 39 (AUC 0,647 (0,610; 0,682), $p = 0,001$) ЕД/л с чувствительностью 68,5% и специфичностью 58,8%;

2) уровень мочевины более 6,75 (AUC 0,796 (0,764; 0,824), $p < 0,001$) ммоль/л с чувствительностью 75,9% и специфичностью 74,1%;

3) уровень лактатдегидрогеназы более 219 (AUC 0,777 (0,718; 0,828), $p < 0,001$) ЕД/л с чувствительностью 95,2% и специфичностью 51,8%;

4) уровень альбумина крови ≤ 38 (AUC 0,792 (0,731; 0,844), $p < 0,001$) г/л с чувствительностью 89,5% и специфичностью 62%;

5) уровень С-реактивного белка (СРБ) более 47 (AUC 0,782 (0,744; 0,816), $p < 0,001$) мг/л с чувствительностью 66,7% и специфичностью 81%.

Анализ биохимических показателей продемонстрировал, что концентрация СРБ более 38 мг/л (AUC 0,862 (0,833; 0,887), $p < 0,001$ с чувствительностью 89,4% и специфичностью 71,0%), уровень ферритина более 648,6 мкг/л (AUC 0,715 (0,666; 0,761), $p = 0,001$ с чувствительностью 52,4% и специфичностью 86,0%) и содержание D-димера в сыворотке крови более 731,11 нг/мл (AUC 0,792 (0,723; 0,850), $p < 0,001$ с чувствительностью 90,0% и специфичностью 61,0%), зафиксированные как наиболее высокие в любой из периодов госпитализации, были статистически значимо ассоциированы с ЛИ при COVID-19 (табл. 3).

Таблица 3

Биохимические показатели крови					
Показатель	AUC, Me (Q_{25} ; Q_{75})	p	Точка разделения	Чувствительность, %	Специфичность, %
Общий белок, г/л	0,687 (0,650; 0,722)	$< 0,001$	≤ 60	51,0	78,6
Глюкоза, ммоль/л	0,637 (0,599; 0,674)	0,003	$> 6,13$	55,0	76,3

Показатель	AUC, Me (Q_{25} ; Q_{75})	p	Точка разделения	Чувствительность, %	Специфичность, %
Аспаратамино-трансфераза, МЕ/л	0,647 (0,610; 0,682)	0,001	>39	68,5	58,8
Мочевина, ммоль/л	0,796 (0,764; 0,824)	<0,001	>6,75	76,0	74,1
Креатинин, мкмоль/л	0,592 (0,555; 0,629)	0,057	>116	31,5	94,1
Натрий, ммоль/л	0,637 (0,599; 0,674)	0,005	≤139,5	56,0	73,9
С-реактивный белок, мг/л	0,782 (0,744; 0,816)	<0,001	>47	66,7	81,0
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	0,777 (0,718; 0,828)	<0,001	>219	95,2	51,8
Альбумин, г/л	0,792 (0,731; 0,844)	<0,001	≤38	89,5	62,0
D-димер, нг/мл	0,746 (0,655; 0,823)	0,002	>731	85,7	61,2
С-реактивный белок	0,862 (0,833; 0,887)	<0,001	>38	89,4	71,0
Ферритин (максимальный уровень), мкг/л	0,715 (0,666; 0,761)	0,001	>648,6	52,4	86,0
D-димер (максимальный уровень), нг/мл	0,792 (0,723; 0,850)	<0,001	>731,11	90,0	61,1

Риски, связанные с терапевтическим воздействием. По данным ROC-анализа, следующие факторы были ассоциированы с ЛИ у госпитализированных пациентов с COVID-19: продолжительность оксигенотерапии более 3 сут (AUC 0,809 (0,779; 0,837), $p < 0,001$ с чувствительностью 88,7% и специфичностью 59,7%); необходимость проведения неинвазивной вентиляции легких (НИВЛ) в течение ≥ 1 сут (AUC 0,700 (0,666; 0,733), $p < 0,001$ с чувствительностью 43,6% и специфичностью 96,5%), инвазивной вентиляции легких (ИВЛ) в течение не менее 1 сут (AUC 0,699 (0,665; 0,732), $p < 0,001$ с чувствительностью 40,3% и специфичностью 99,6%). Важно отметить, что потребность в оксигенотерапии через лицевую маску увеличивала шанс ЛИ с OR 14,97 (5,38; 41,71), применение метода НИВЛ – с OR 22,61 (11,86; 43,10) и метода ИВЛ с OR 384,35 (110,59; 1335,72), $p < 0,001$.

Применение противовирусных препаратов (фавипиравир, умифеновир, интерферон альфа-2b, интерферон бета-1b, ритонавир + лопинавир) и антикоагулянтов на госпитальном этапе лечения не продемонстрировало статистически значимого влияния на исход COVID-19 ($p > 0,05$).

По данным ROC-анализа, потребность назначения в стационаре глюкокортикостероидов (ГКС) с продолжительностью приема более 1 сут (AUC 0,803 (0,772; 0,831), $p < 0,001$ с чувствительностью 90,3% и специфичностью 62,1%) и достижение общей курсовой дозы более 6 г по дексаметазону (AUC 0,834 (0,806; 0,860), $p < 0,001$ с чувствительностью 91,9% и специфичностью 60,9%) явились предикторами ЛИ. В исследовании также обнаружено, что шанс ЛИ у пациентов с НКИ, нуждавшихся в применении ГКС (OR 29 (9,00; 93,45), $p < 0,001$), ингибиторов интерлейкина-6 (OR 7,08 (2,99; 16,78), $p < 0,001$), ингибиторов янус-киназ (OR 7,78 (2,14; 28,36), $p = 0,001$),

был значительно выше, чем у пациентов, которым данные препараты не назначались.

ОБСУЖДЕНИЕ

Возраст пациентов при COVID-19 рассматривается в качестве одного из ключевых факторов, ассоциированных с летальностью. Так, по данным многоцентрового исследования F. Zhou и соавт. [2], увеличение вероятности внутрибольничной смерти связано с пожилым возрастом (при медиане возраста в группе умерших 69,0 (63,0; 76,0) лет, в группе выживших 52,0 (45,0; 58,0) года ($p < 0,0001$) OR 1,10 (1,03; 1,17), $p = 0,0043$). В исследовании L. Kubiliute и соавт. (2023) пожилой возраст являлся независимым предиктором внутрибольничной смертности, связанной с увеличением шансов ЛИ на 4% в год, что соотносили с большим количеством сопутствующих заболеваний и иммуностарением, характеризующимся возрастными дефектами функции Т- и В-клеток, которые ослабляют иммунный ответ на большинство вирусов, включая SARS-CoV-2 [3, 4].

В выполненном нами исследовании не выявлено статистически значимых различий по частоте ЛИ у госпитализированных пациентов с COVID-19 в зависимости от гендерной принадлежности. Отметим, что опубликованные ранее данные клинических исследований приводят различные результаты влияния пола на уровень летальности при COVID-19. Так, в исследованиях А.С. Jain и соавт. (2020) и N.Ç. Başaran и соавт. (2022) уровень смертности среди мужчин был выше, чем среди женщин [5, 6]. В других работах, напротив, не выявлено значимого влияния гендера на исход госпитализации [7–9] и выживаемость пациентов [10].

По данным системного обзора L.J. Quinton и соавт. (2018), пневмония оказывает выраженное влияние на физиологические процессы, поддерживаю-

шие легочный гомеостаз, с развитием долгосрочных негативных последствий, которые ухудшают здоровье и ускоряют смертность после окончания острого процесса [11]. В нашем исследовании факт развития пневмонии за год, предшествующий COVID-19, увеличивал шанс ЛИ почти в 15 раз.

Согласно опубликованным данным, риск наступления ЛИ связан с наличием у пациента коморбидной патологии [12, 13]. В данной работе значимое влияние на исход НКИ оказывало не только общее количество сопутствующих заболеваний, но и наличие у пациентов определенной патологии или групп заболеваний, включая ишемическую болезнь сердца, гипертоническую болезнь, хроническую сердечную недостаточность, острое нарушение мозгового кровообращения, сахарный диабет, анемию, алкоголизм, цирроз печени, актуальные неврологические заболевания, снижение СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м² по СКД-ЕРІ, а также онкологические заболевания актуальные на момент госпитализации или их наличие в анамнезе. Полученные нами результаты о роли сопутствующей и коморбидной патологии в прогнозировании тяжести течения и исхода COVID-19 в целом соотносятся с данными других авторов [14–18].

В выполненном нами исследовании применение противовирусных препаратов на амбулаторном этапе было ассоциировано со снижением шанса ЛИ от НКИ, что не противоречило результатам ряда других исследований [19, 20].

Анализ жалоб пациентов продемонстрировал, что аносмия и головная боль при поступлении в стационар были ассоциированы с благоприятным исходом заболевания у пациентов с COVID-19. Интересно, что схожие результаты были получены в исследованиях В. Talavera и соавт. (2020) [21].

Развитие дыхательной недостаточности и ее тяжесть при COVID-19 отражают степень выраженности поражения легочной паренхимы и ассоциированы с исходом заболевания по данным исследований [22]. В выполненной нами работе продемонстрировано, что снижение SpO₂ на атмосферном воздухе при поступлении в стационар до уровня менее 94% и (или) до отметки ≤89% в любой из моментов пребывания пациента в стационаре было ассоциировано с наступлением ЛИ.

На сегодняшний день опубликованы результаты множества исследований, рассматривающих различные лабораторные показатели в качестве предикторов неблагоприятного исхода. При этом обращает внимание заметное разнообразие в пороговых значениях изученных показателей. По результатам исследования В. Cheng и соавт. (2019), значение нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (НЛО)

более 3,19 (AUC 0,810 (0,732; 0,878), $p < 0,001$) и СРБ >33,4 мг/л (AUC 0,890 (0,825; 0,946), $p < 0,001$) при поступлении пациентов в РГ ассоциировались со смертельным исходом [23]. В выполненном нами исследовании при измерении в ранние сроки госпитализации значение НЛО более 4,8 (AUC 0,774 (0,741; 0,804), $p < 0,0001$) с чувствительностью 66% и специфичностью 80,7% и уровень СРБ более 47 мг/л (AUC 0,782 (0,744; 0,816), $p < 0,001$) с чувствительностью 66,7% и специфичностью 81,0% ассоциировались с неблагоприятным исходом НКИ.

Согласно данным Н. Ghobadi и соавт. (2022), при изучении роли маркеров системного воспаления пороговыми значениями в прогнозировании смертности у пациентов с COVID-19 стали уровень лейкоцитов более $9,05 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,969 (0,960; 0,977), $p < 0,0001$ с чувствительностью 89,0% и специфичностью 95,9%), нейтрофилов более $8,79 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,971 (0,962; 0,978), $p < 0,0001$ с чувствительностью 89,8% и специфичностью 94,3%) и лимфоцитов менее $0,91 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,566 (0,543; 0,589), $p < 0,0001$ с чувствительностью 50,4% и специфичностью 61,2%) [24]. В представленной нами работе уровень нейтрофилов более $4,57 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,696 (0,660; 0,730), $p < 0,001$) с чувствительностью 63,8% и специфичностью 72,4%, уровень лимфоцитов $\leq 1,08 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,768 (0,735; 0,798), $p < 0,001$) с чувствительностью 70,2% и специфичностью 70,3%, а также повышение уровня лейкоцитов более $14,27 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,855 (0,827; 0,880), $p < 0,001$ с чувствительностью 70,0% и специфичностью 90,0%) и снижение лимфоцитов $\leq 0,73 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,878 (0,852; 0,901), $p < 0,001$ с чувствительностью 85,0% и специфичностью 82,3%) за весь период госпитализации были ассоциированы с неблагоприятным исходом заболевания.

В качестве доступного биомаркера, связанного с тяжестью заболевания и риском смертности при НКИ, многие исследователи рассматривают уровень тромбоцитов. Так, в работе J. Duan и соавт. (2020) уровень тромбоцитов $\leq 174 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,810 (0,760; 0,850) с чувствительностью 100,0% и специфичностью 56,0% позволял предсказывать прогрессирование заболевания до тяжелых форм [25]. В нашем исследовании уровень тромбоцитов $\leq 183 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,673 (0,638; 0,708), $p = 0,001$) с чувствительностью 61,7% и специфичностью 71,8% ассоциирован с неблагоприятным исходом.

В исследовании Z. Mohammadi и соавт. (2022) повышение аспаратаминотрансферазы (АСТ) более 36,5 МЕ/л (AUC 0,374 (0,328; 0,403) с чувствительностью 61,9% и специфичностью 57,6% являлось значимым предиктором внутрибольничной смертно-

сти от COVID-19 [26]. По данным А. Pitamberwale и соавт. (2022), концентрация мочевины в сыворотке ≥ 52 мг/дл с чувствительностью 73,6% и специфичностью 60,5% была ассоциирована с ЛИ. Поддержание концентрации сывороточного альбумина $\geq 3,25$ г/дл продемонстрировало значимость в качестве предиктора выживаемости с чувствительностью 76,7% и специфичностью 59,3% [27]. В выполненной нами работе уровень АСТ >39 (AUC 0,647 (0,610; 0,682), $p = 0,001$) ЕД/л с чувствительностью 68,5% и специфичностью 58,8%, альбумина крови ≤ 38 (AUC 0,792 (0,731; 0,844), $p < 0,001$) г/л с чувствительностью 89,5% и специфичностью 62,0% и уровень мочевины $>6,75$ (AUC 0,796 (0,764; 0,824), $p < 0,001$) ммоль/л с чувствительностью 76,0% и специфичностью 74,1% стали предикторами смертности у пациентов с COVID-19. Отметим, что уровень креатинина статистически значимо не влиял на исход заболевания ($p = 0,057$) по данным выполненного исследования.

В исследовании Е. Roggiali и соавт. (2020) повышение уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ) рассматривалось как маркер повреждения тканей и прогнозирования тяжести острой дыхательной недостаточности у пациентов с развитием фатального острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). При этом уровень ЛДГ более 450 ЕД/л (AUC 0,760, $p < 0,0001$) с чувствительностью 75,0% и специфичностью 70,0% позволял прогнозировать умеренный и тяжелый ОРДС [28]. В нашем исследовании предиктором неблагоприятного исхода стал уровень ЛДГ при поступлении в РГ более 219 (AUC 0,777 (0,718; 0,828), $p < 0,001$) ЕД/л с чувствительностью 95,2% и специфичностью 51,8%.

В работе А. Bastug и соавт. уровень D-димера при поступлении в госпиталь $\geq 0,565$ мг/л (AUC 0,896 (0,810; 0,970), $p < 0,001$) с чувствительностью 85,7% и специфичностью 80,6% позволял прогнозировать неблагоприятное течение заболевания [8]. В нашем исследовании продемонстрировано, что уровень D-димера (в любой из моментов госпитализации) более 731,11 (AUC 0,792 (0,723; 0,850), $p < 0,001$) нг/мл с чувствительностью 90,0% и специфичностью 61,1% статистически значимо ассоциирован с ЛИ.

Анализ назначаемой пациентам терапии НКИ за период госпитализации обращает внимание на то, что применение ГКС более 1 сут, а также достижение общей курсовой дозы более 6 г по дексаметазону ассоциировалось с неблагоприятным исходом госпитализации. Шанс ЛИ у пациентов, нуждавшихся в применении ГКС, ингибиторов интерлейкина-6, ингибиторов янус-киназы – был значительно выше, чем у пациентов, которым данные препараты

не назначались. Полученные нами данные требуются интерпретировать с осторожностью, поскольку эти группы препаратов применялись, с одной стороны, в условиях ограниченной доказательной базы по эффективности и безопасности при НКИ, а с другой – объяснимо чаще при более тяжелом прогрессирующем течении заболевания [23, 29].

Кроме того, по данным нашего исследования, продолжительность оксигенотерапии более 3 сут (AUC 0,809 (0,779; 0,837), $p < 0,001$ с чувствительностью 88,7% и специфичностью 59,7%), необходимость проведения НИВЛ в течение ≥ 1 сут (AUC 0,700 (0,666; 0,733), $p < 0,001$ с чувствительностью 43,6% и специфичностью 96,5%), ИВЛ в течение ≥ 1 сут (AUC 0,699 (0,665; 0,732), $p < 0,001$ с чувствительностью 40,3% и специфичностью 99,6% соответственно) были ассоциированы с ЛИ у госпитализированных пациентов с COVID-19. Полученные результаты не противоречат данным других авторов. Так, в работе В.Н. Городина и соавт. (2022) длительность проведения оксигенотерапии через назальные канюли или лицевую маску более 4,5 сут статистически значимо увеличивала вероятность ЛИ (интервал между верхними точками желудочков ((RR) 1,919 (1,308; 2,817), $p < 0,05$) с чувствительностью 35,7% и специфичностью 95,2%. При этом факт использования НИВЛ в качестве второго шага респираторной поддержки и продолжительность ее применения более 2 сут достоверно повышали риск неблагоприятного исхода (RR 2,276 (1,202; 4,311), $p < 0,05$ с чувствительностью 75,9%, специфичностью 66,7% и RR 2,0 (1,184; 3,377), $p < 0,05$, с чувствительностью 68,2% и специфичностью 100,0% соответственно [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволили выделить ряд факторов и их количественные значения, которые уже на ранних сроках госпитализации при COVID-19 имели предиктивное значение в отношении ЛИ. Так, среди анамнестических факторов ключевую роль играл пожилой возраст, наличие коморбидных заболеваний, перенесенная в течение предшествующего НКИ года пневмония. Напротив, амбулаторный прием противовирусных препаратов снижал риск неблагоприятного исхода.

При оценке физического статуса в качестве потенциальных факторов риска при COVID-19 могут быть рассмотрены выраженная одышка, уровень диастолического и пульсового давления, снижение сатурации кислорода ниже референсных значений при поступлении и в течение периода госпитализации, наличие влажных хрипов и ослабления дыхания.

Среди лабораторных маркеров, ассоциированных с риском ЛИ, следует выделить снижение уровней тромбоцитов и лимфоцитов, альбумина сыворотки, повышение уровней лейкоцитов, нейтрофилов, НЛЮ, АСТ, мочевины, ЛДГ, СРБ, D-димера, ферритина.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wang H., Paulson K.R., Pease S.A., Watson S., Comfort H., Zheng P. et al. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020–21. *The Lancet*. 2022;399(10334):1513–1536. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02796-3.
2. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020;395(10229):1054–1062. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
3. Kubiliute I., Vitkauskaitė M., Urbonienė J., Svetikas L., Zabolockienė B., Jancoriene L. Clinical characteristics and predictors for in-hospital mortality in adult COVID-19 patients: A retrospective single center cohort study in Vilnius, Lithuania. *PLoS One*. 2023;18(8):e0290656. DOI: 10.1371/journal.pone.0290656.
4. Bartleson J.M., Radenkovic D., Covarrubias A.J., Furman D., Winer D.A., Verdin E. SARS-CoV-2, COVID-19 and the Ageing Immune System. *Nat. Aging*. 2021;1(9):769–782. DOI: 10.1038/s43587-021-00114-7.
5. Jain A.C., Kansal S., Sardana R., Bali R.K., Kar S., Chawla R. A retrospective observational study to determine the early predictors of in-hospital mortality at admission with COVID-19. *Indian J. Crit. Care Med*. 2020;24(12):1174–1179. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23683.
6. Başaran N.Ç., Özdede M., Uyaroğlu O.A., Şahin T.K., Özcan B., Oral H. et al. Independent predictors of in-hospital mortality and the need for intensive care in hospitalized non-critical COVID-19 patients: a prospective cohort study. *Intern. Emerg. Med*. 2022;17(5):1413–1424. DOI: 10.1007/s11739-022-02962-6.
7. Shi S., Liu X., Xiao J., Wang H., Chen L., Li J. et al. Prediction of adverse clinical outcomes in patients with coronavirus disease 2019. *J. Clin. Lab. Anal*. 2021;35(1):e23598. DOI: 10.1002/jcla.23598.
8. Bastug A., Bodur H., Erdogan S., Gokcinar D., Kazancioglu S., Kosovali B.D. et al. Clinical and laboratory features of COVID-19: Predictors of severe prognosis. *Int. Immunopharmacol*. 2020;88:106950. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106950.
9. Корхмазов В.Т., Алексеенко С.Н., Перхов В.И. Половозрастная структура смертности от COVID-19. *Инновационная медицина Кубани*. 2022;4(28):39–46. DOI: 10.35401/2541-9897-2022-25-4-39-46.
10. Raimondi F., Novelli L., Ghirardi A., Russo F.M., Pellegrini D. et al. Covid-19 and gender: lower rate but same mortality of severe disease in women-an observational study. *BMC Pulm. Med*. 2021;21(1):96. DOI: 10.1186/s12890-021-01455-0.
11. Quinton L.J., Walkey A.J., Mizgerd J.P. Integrative physiology of pneumonia. *Physiol. Rev*. 2018;98(3):1417–1464. DOI: 10.1152/physrev.00032.2017.
12. Арутюнов Г.П., Тарловская Е.И., Арутюнов А.Г., Беленков Ю.Н., Конради А.О., Лопатин Ю.М. и др. Международный регистр «Анализ динамики коморбидных заболеваний у пациентов, перенесших инфицирование SARS-CoV-2» (АКТИВ SARS-CoV-2): анализ предикторов неблагоприятных исходов острой стадии новой коронавирусной инфекции. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(4):116–131. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4470.
13. Williamson E.J., Walker A.J., Bhaskaran K., Bacon S., Bates C. et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. 2020;584(7821):430–436. DOI: 10.1038/s41586-020-2521-4.
14. Hu K., Li B., Bae S., Kim S.R., Kim M.N., Shim W.J. et al. Impact of cardiovascular disease and risk factors on fatal outcomes in patients with COVID-19 according to age: a systematic review and meta-analysis. *Heart*. 2021;107(5):373–380. DOI: 10.1136/heartjnl-2020-317901.
15. Zhang J., Wang Z., Wang X., Hu Z., Yang C., Lei P. Risk Factors for Mortality of COVID-19 Patient Based on Clinical Course: A Single Center Retrospective Case-Control Study. *Front Immunol*. 2021;12:581469. DOI: 10.3389/fimmu.2021.581469.
16. Xiao Y., Wu D., Shi X., Liu S., Hu X., Zhou C., Tian X. et al. High Child-Pugh and CRUB65 scores predict mortality of decompensated cirrhosis patients with COVID-19: A 23-center, retrospective study. *Virulence*. 2021;12(1):1199–1208. DOI: 10.1080/21505594.2021.1909894.
17. Berenguer J., Borobia A.M., Ryan P., Rodríguez-Baño J., Bellón J.M., Jarrín I. et al. Development and validation of a prediction model for 30-day mortality in hospitalised patients with COVID-19: the COVID-19 SEIMC score. *Thorax*. 2021;76(9):920–929. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-216001.
18. Cho S.I., Yoon S., Lee H.J. Impact of comorbidity burden on mortality in patients with COVID-19 using the Korean health insurance database. *Sci. Rep*. 2021;11(1):6375. DOI: 10.1038/s41598-021-85813-2.
19. Жанибеков Ж.Ж., Чухляев П.В., Хавкина Д.А., Ахмедова М.Д., Руженцова Т.А. Значение амбулаторной этиотропной терапии у пациентов, госпитализированных с COVID-19. *Журнал инфектологии*. 2023;15(1):48–54. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-48-54.
20. Ленева И.А., Пшеничная Н.Ю., Булгакова В.А. Умифеновир и коронавирусные инфекции: обзор результатов исследований и опыта применения в клинической практике. *Терапевтический архив*. 2020;92(11):91–97. DOI: 10.26442/00403660.2020.11.000713.
21. Talavera B., García-Azorín D., Martínez-Pías E., Trigo J., Hernandez-Perez I., Valle-Penacoba G. et al. Anosmia is associated with lower in-hospital mortality in COVID. *J. Neurol. Sci*. 2020;419:117163. DOI: 10.1016/j.jns.2020.117163.
22. Yadaw A.S., Li Y.C., Bose S., Iyengar R., Bunyavanich S., Pandey G. Clinical features of COVID-19 mortality: development and validation of a clinical prediction model. *Lancet Digit Health*. 2020;2(10):516–525. DOI: 10.1016/S2589-7500(20)30217-X.
23. Cheng B., Hu J., Zuo X., Chen J., Li X., Chen Y. et al. Predictors of progression from moderate to severe coronavirus

- disease 2019: a retrospective cohort. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(10):1400–1405. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.06.033.
24. Ghobadi H., Moham madshahi J., Javaheri N., Fouladi N., Mirzazadeh Y., Aslani M.R. Role of leukocytes and systemic inflammation indexes (NLR, PLR, MLP, dNLR, NLPR, AISI, SIR-I, and SII) on admission predicts in-hospital mortality in non-elderly and elderly COVID-19 patients. *Front. Med (Lausanne)*. 2022;9:916453. DOI: 10.3389/fmed.2022.916453.
 25. Duan J., Wang X., Chi J., Chen H., Bai L., Hu Q. et al. Correlation between the variables collected at admission and progression to severe cases during hospitalization among patients with COVID-19 in Chongqing. *J. Med. Virol.* 2020;92(11):2616–2622. DOI: 10.1002/jmv.26082.
 26. Mohammadi Z., Faghhi D.M., Vahed N., Ebrahimi B.H., Rahmani F. Clinical and Laboratory Predictors of COVID-19-Related In-hospital Mortality; a Cross-sectional Study of 1000 Cases. *Arch. Acad. Emerg. Med.* 2022;10(1):49. DOI: 10.22037/aaem.v10i1.1574.
 27. Pitamberwale A., Mahmood T., Ansari A.K., Ansari S.A., Limgaokar K., Singh L. et al. Biochemical parameters as prognostic markers in severely ill COVID-19 patients. *Cureus*. 2022;14(8):28594. DOI: 10.7759/cureus.28594.
 28. Poggiali E., Zaino D., Immovilli P., Rovero L., Losi G., Dacrema A. et al. Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in COVID-19 patients. *Clin. Chim. Acta.* 2020;509:135–138. DOI: 10.1016/j.cca.2020.06.012.
 29. Tomazini B.M., Maia I.S., Cavalcanti A.B., Berwanger O., Rosa R.G., Veiga V.C. et al. Effect of Dexamethasone on Days Alive and Ventilator-Free in Patients With Moderate or Severe Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: The CoDEX Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;324(13):1307–1316. DOI: 10.1001/jama.2020.17021.
 30. Городин В.Н., Мойсова Д.Л., Пронин М.Г., Зотов С.В., Михайлюк Э.И., Тихоненко Ю.В. Препараты неблагоприятного исхода у больных на ИВЛ при тяжелых формах пандемических вирусных инфекций (грипп АН1N1pdm09, COVID-19). *Инфекционные болезни*. 2022;20(4):25–33. DOI: 10.20953/1729-9225-2022-4-25-33.

Вклад авторов

Малиновский В.А. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста. Федосенко С.В. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование рукописи. Семакин А.В. – сбор и обработка материала, написание текста. Диркс И.И., Семенова О.Л. – сбор и обработка материала. Аржаник М.Б., Агаева С.А. – сбор и обработка материала, редактирование рукописи. Винокурова Д.А. – концепция и дизайн исследования. Старовойтова Е.А., Нестерович С.В., Калужин В.В. – концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи.

Информация об авторах

Малиновский Владислав Александрович – аспирант, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, врач-терапевт, СибГМУ, г. Томск, vladislav-9509@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-8099-3870>

Федосенко Сергей Вячеславович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, s-fedosenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6655-3300>

Семакин Алексей Владимирович – аспирант, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, drseminav@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-4723-1494>

Диркс Иван Иванович – студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск, i.dirks@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0005-5560-0016>

Аржаник Марина Борисовна – канд. пед. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, arzh_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4844-9803>

Семенова Оксана Леонидовна – ст. преподаватель, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, oksleon@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6866-5020>

Винокурова Дарья Александровна – зав. терапевтической клиникой, ассистент, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, vinokurovadaria@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8422-8349>

Старовойтова Елена Александровна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, elena-starovoytova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4281-1157>

Агаева София Александровна – студент, педиатрический факультет, лаборант-исследователь, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, agaeva.sofiyya@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-5619-5473>

Нестерович Софья Владимировна – канд. мед. наук, гл. врач клиник, СибГМУ, г. Томск, nesterovich.sv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2098-2964>

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>

(✉) Агаева София Александровна, agaeva.sofiyya@gmail.com

Поступила в редакцию 11.06.2024;
одобрена после рецензирования 25.06.2024;
принята к публикации 27.06.2024

УДК 616.127-005.8-02:616.131-008.331.1]-055.1-053.81/.85

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-74-81>

Предикторы легочной гипертензии в подостром периоде инфаркта миокарда у мужчин молодого и среднего возраста

Меньшикова А.Н., Гордиенко А.В., Сотников А.В., Носович Д.В.

Военно-медицинская академия (ВМедА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

РЕЗЮМЕ

Цель. Выявить предикторы развития легочной гипертензии (ЛГ) в подостром периоде инфаркта миокарда (ИМ) у мужчин молодого и среднего возраста для совершенствования профилактических мероприятий.

Материалы и методы. Изучены результаты лечения мужчин 32–60 лет с верифицированным диагнозом ИМ. По итогам выполнения эхокардиографии и выявления ЛГ в конце третьей недели ИМ пациентов разделяли на исследуемую группу (с ЛГ) и группу сравнения (с нормальным уровнем давления в легочной артерии). В изучаемых группах проведена сравнительная оценка различных параметров, а также выполнен анализ рисков развития ЛГ с помощью критерия χ^2 Пирсона.

Результаты. На риск развития ЛГ в подостром периоде ИМ оказывают статистически значимое влияние некоторые параметры периферической гемодинамики, наличие брадикардии, расчетная величина общего легочного сопротивления. Значимыми предикторами ЛГ в подостром периоде ИМ оказались основные параметры липидограммы, а также некоторые показатели электролитного обмена (натрий и магний в первые 48 ч ИМ, калий и кальций в конце третьей недели заболевания). Установлено наличие статистически значимой взаимосвязи ряда показателей структурно-функционального состояния миокарда как первых 48 ч ИМ, так и конца третьей недели заболевания, с риском развития ЛГ в подостром периоде ИМ.

Заключение. Выявленные предикторы позволяют формировать группы повышенного риска ЛГ среди пациентов с ИМ с целью своевременной диагностики и лечения для улучшения прогноза.

Ключевые слова: легочная гипертензия, предикторы, инфаркт миокарда, факторы риска кардиоваскулярных заболеваний, давление в легочной артерии, систолическая дисфункция, эхокардиография, мужчины, молодой и средний возраст

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 независимым этическим комитетом при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (протокол № 258 от 21.12.2021) и выполнено в соответствии с планом научной работы ВМедА им. С.М. Кирова.

Для цитирования: Меньшикова А.Н., Гордиенко А.В., Сотников А.В., Носович Д.В. Предикторы легочной гипертензии в подостром периоде инфаркта миокарда у мужчин молодого и среднего возраста. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):74–81. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-74-81>.

Predictors of pulmonary hypertension in the subacute period of myocardial infarction in young and middle-aged males

Menshikova A.N., Gordienko A.V., Sotnikov A.V., Nosovich D.V.

S.M. Kirov Military Medical Academy

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

ABSTRACT

Aim. To identify predictors of the development of pulmonary hypertension (PH) in the subacute period of myocardial infarction (MI) in young and middle-aged males to improve preventive measures.

Materials and methods. We studied the results of treatment of male patients aged 32–60 years with a verified diagnosis of MI. Based on echocardiography findings and detection of PH at the end of the third week of MI, the patients were divided into the study group (patients with PH) and the comparison group (patients with a normal pressure in the pulmonary artery). In the studied groups, a comparative assessment of various parameters was performed, and an analysis of the risks of developing PH using the Pearson's chi-squared test was conducted.

Results. We found that the risk of developing PH in the subacute period of MI was significantly affected by certain parameters of peripheral hemodynamics, the presence of bradycardia, and the calculated value of total pulmonary resistance. The main parameters of the lipid profile were found to be significant predictors of PH in the subacute period of MI, along with some parameters of electrolyte metabolism (sodium and magnesium in the first 48 hours of MI, potassium and calcium at the end of the third week of the disease). We established the presence of a reliable relationship between several parameters of the structural and functional state of the myocardium both in the first 48 hours of MI and the end of the third week of the disease with the risk of developing PH in the subacute period of MI.

Conclusion. The identified predictors make it possible to determine patients with MI who are at an increased risk of PH to timely diagnose and treat the disease and improve the prognosis.

Keywords: pulmonary hypertension, predictors, myocardial infarction, cardiovascular disease risk factors, pulmonary artery pressure, systolic dysfunction, echocardiography, men, young and middle age

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

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

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the independent Ethics Committee at S.M. Kirov Military Medical Academy (Protocol No. 258 of 21.12.2021) and was carried out in accordance with the research plan of S.M. Kirov Military Medical Academy.

For citation: Menshikova A.N., Gordienko A.V., Sotnikov A.V., Nosovich D.V. Predictors of pulmonary hypertension in the subacute period of myocardial infarction in young and middle-aged males. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):74–81. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-74-81>.

ВВЕДЕНИЕ

Легочная гипертензия (ЛГ) представляет собой патологическое состояние, которое часто является осложнением значительного числа заболеваний, что легло в основу современной классификации данной патологии. Отдельно рассматривается ЛГ при заболеваниях левых камер сердца, особенно на фоне инфаркта миокарда (ИМ) [1, 2], поскольку это осложнение в значительной степени утяжеляет его течение и ухудшает прогноз [1, 3]. Данное утверждение в большей степени доказано в отношении пациентов

старшего возраста [4, 5], однако в настоящее время прослеживается четкая тенденция к «омоложению» ИМ [6, 7].

В связи с регулярным воздействием на мужчин молодого и среднего трудоспособного возраста таких распространенных факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии, как неправильное питание, низкая физическая активность, избыточная масса тела, психоэмоциональный стресс, табакокурение и артериальная гипертензия, частота развития ИМ среди указанной категории увеличивается.

В перспективе это влечет за собой актуализацию проблем ЛГ у мужчин трудоспособного возраста [6–8]. Наиболее доступным неинвазивным методом выявления повышенного давления в легочной артерии является эхокардиография (ЭХО-КГ), что не всегда позволяет своевременно диагностировать ЛГ, несмотря на повсеместное ее использование [1, 5, 8]. ЛГ, характеризуемая неуклонно прогрессирующим течением, как правило, длительное время не имеет четких клинических проявлений, что затрудняет ее диагностику и приводит к инвалидизации пациентов, а также снижению эффективности проводимой терапии [1, 2, 8].

Цель исследования – выявить предикторы развития ЛГ в подостром периоде ИМ у мужчин моложе 60 лет среди наиболее доступных клинических, лабораторных и инструментальных показателей с целью улучшения ее профилактики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основными критериями включения в исследование являлись: мужской пол, возраст 18–60 лет, наличие верифицированного ИМ I типа (IV универсальное определение, 2018) [9]. Критериями исключения служили: женский пол; возраст моложе 18 и старше 60 лет; исходно сниженная скорость клубочковой фильтрации (СКД-ЕРІ, 2011) менее 30 мл/мин/1,73 м²; наличие ИМ II, III, IV и V типов; наличие сопутствующей патологии, способной оказывать независимое влияние на развитие ЛГ (вирусные гепатиты В и С, циррозы печени, другие синдромы портальной гипертензии, ВИЧ-инфекция; системные заболевания соединительной ткани с постоянной иммуносупрессивной терапией; врожденные пороки сердца); верифицированные онкологические заболевания; эндокринная патология (кроме сахарного диабета); выраженные отклонения в клиническом анализе крови (уровень гемоглобина менее 130 г/л, тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$, лейкоцитов менее $3,0 \times 10^9/\text{л}$).

Проведение этого исследования одобрено независимым этическим комитетом Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (протокол № 258 от 21.12.2021). Всеми обследованными или их родственниками перед началом процедур подписано информированное согласие на участие в исследовании.

Таким образом, в исследование были включены 570 мужчин 32–60 лет, среди которых ИМ с образованием зубца Q выявлен у 53,5% (305 пациентов), наличие осложнений – у 56,5% (322 человека). Повторные ИМ зарегистрированы у 49,7% (283 пациента), рецидивирующие – у 4,4% (25 пациентов). В зависимости от локализации ИМ пациенты распределились следующим образом: ИМ передней стенки левого же-

лудочка (ЛЖ) выявлен у 47,0% (268 человек), нижней стенки ЛЖ – у 39,5% (225 человек), иной локализации – у 13,5% (77 человек). При разделении на исследуемую и группу сравнения пациенты значительно не различались по указанным признакам. Летальный исход наблюдался в 5,1% случаев (29 пациентов) – только среди пациентов группы сравнения ($p = 0,012$).

В первые 48 ч (I) и в конце 3-й нед ИМ (II) всем пациентам выполняли комплекс клинико-лабораторных мероприятий в соответствии с утвержденными клиническими рекомендациями, в том числе ЭХО-КГ, при которой регистрировали размеры камер сердца и среднее давление в легочной артерии (СДЛА) [1, 10]. Оценивали систолическую функцию ЛЖ по J.S. Simpson [11–13]. По методу Ю.Н. Шишмарева выполняли расчет величины общего легочного сопротивления (ОЛС) [13–15]. В числе других параметров гемодинамики всем пациентам при ЭХО-КГ определяли: размеры левого предсердия (ЛП), толщину задней стенки (ЗС) ЛЖ, конечно-диастолический размер правого желудочка (КДРпж), фракцию выброса (ФВ) ЛЖ, индексы: сердечный (СИ), массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ), конечно-систолического (КСО/С) и конечно-диастолического (КДО/С) объемов ЛЖ. Индексацию вычисляли по площади поверхности тела (D. Dubois и E.F. Dubois) [10, 11]. В зависимости от значений СДЛА среди пациентов выделили две группы: исследуемую – уровень СДЛА_I в пределах нормы (менее 20 мм рт. ст.) и повышение СДЛА_{II} до 21 мм рт. ст. и более – 102 больных (средний возраст $51,0 \pm 7,0$ лет); и группу сравнения – пациенты с нормальным или повышенным уровнем СДЛА_I и нормальным уровнем СДЛА_{II} – 468 больных ($51,4 \pm 6,0$ лет, $p = 0,978$).

С целью раннего контроля проявлений сердечной недостаточности (СН) в первые 48 ч (I) и в завершении 3-й нед (II) ИМ проводили оценку выраженности ее симптомов (одышки, сердцебиения, слабости, кашля, утомляемости) при помощи вычисления индекса субъективных проявлений СН (ИСПСН) [15]. В качестве параметров объективного обследования использовали основные показатели периферической гемодинамики: частоту сердечных сокращений (ЧСС) в минуту, уровень систолического (сисАД), диастолического (диастАД) и среднего (срАД) артериального давления (срАД = диастАД + $1/3 \times (\text{сисАД} - \text{диастАД})$). Среди лабораторных показателей изучали основные параметры липидограммы: концентрацию в крови общего холестерина (ОХ), липопротеидов, ранжированных по плотности (высокой (ЛПВП), очень низкой (ЛПОНП) и низкой (ЛПНП)), их соотношения (ЛПНП/ЛПВП и ОХ/ЛПВП), коэффициент атерогенности (КА).

Кроме этого, определяли показатели электролитного обмена – уровни калия, натрия, общего кальция и магния.

Все пациенты, включенные в исследование, получали медикаментозную терапию в соответствии с клиническими рекомендациями по ведению пациентов с ИМ, в том числе антикоагулянтную, антиагрегантную, гиполипидемическую, а также препараты из группы блокаторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, бета-адреноблокаторы и нитропрепараты. Пациенты исследуемой и группы сравнения не имели статистически значимых различий по проводимой медикаментозной терапии. Доля реваскуляризированных пациентов в исследуемой группе составила 25,5% (26 человек), в группе сравнения – 21,8% (102 человека, $p = 0,263$). Выделенные группы не имели статистически значимых различий по числу стенозированных коронарных артерий, а также протяженности и выраженности выявленных стенозов, частоте случаев и объеме реваскуляризации. Низкая доля больных, перенесших коронароангиографию и раннюю реваскуляризацию миокарда, обусловлена, главным образом, отказом пациентов от выполнения процедуры и (или) превышением сроков доставки в стационар в связи с поздним обращением.

Систематизация полученных параметров клинического и лабораторно-инструментального обследования выполнялась при помощи формализованной истории болезни, представленной в виде электронной базы данных (Microsoft Excel 2016). Для выполнения статистической обработки результатов исследования использовали программы Microsoft Excel 2016, Statistica 10.0 и SAS JMP 11. Сравнение полученных показателей между выделенными группами производили по критерию Манна – Уитни и с помощью критерия χ^2 Пирсона. Последний, кроме того, использовали для оценки статистической зна-

чимости влияния факторов на бинарную целевую переменную при расчете рисков возникновения ЛГ во второй точке (II) – абсолютного (АР, %) и относительного с 95% доверительным интервалом (ОР, абс. [95% ДИ]). Уровни отсечения этих факторов определяли по максимальной статистической их значимости. Величину $p < 0,05$ считали статистически значимой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке влияния параметров периферической гемодинамики на риск развития ЛГ во второй точке (II) измерения оказалось, что значимую связь имеют такие показатели, определяемые в этот период (II), как уровни срАД_{II} 93,3 мм рт. ст. и более (АР: 11,2%; ОР: 1,98 [1,23; 3,19]; $p = 0,003$) и диастАД_{II} 75 мм рт. ст. и более (АР: 10,9%; ОР: 1,98 [1,19; 3,30]; $p = 0,005$), а также уровень систАД_I 160 мм рт. ст. и более (АР: 9,3%; ОР: 1,58 [1,07; 2,33]; $p = 0,023$) и ЧСС_I менее 75 в минуту (АР: 20,5%; ОР: 3,71 [2,19; 6,28]; $p < 0,001$) в первые часы (I) ИМ. Выявлено, что риск развития ЛГ после ИМ возрастает при наличии у больного при регистрации электрокардиограммы брадикардии (АР: 17,3%; ОР: 2,04 [1,33; 3,14]; $p = 0,020$) и уменьшается при наличии синусовой тахикардии (АР: 17,9%; ОР: 0,18 [0,06; 0,57]; $p < 0,001$). Риск развития в подостром периоде ИМ ЛГ повышается у пациентов с величиной ОЛС_I менее 421 дин $\times$ с $\times$ см⁻⁵ (АР: 20,1%; ОР: 3,29 [2,03; 5,32]; $p < 0,001$) и ОЛС_{II} 237,3 и более дин $\times$ с $\times$ см⁻⁵ (АР: 17,6%; ОР: 4,03 [1,81; 8,97]; $p < 0,001$). С риском развития ЛГ после ИМ получена связь расчетного уровня ИСПСН менее 19,3%, определяемого в конце 3-й нед ИМ (АР: 12,1%; ОР: 2,16 [1,02; 4,58]; $p = 0,033$).

На рис. 1 и 2 представлены данные о взаимосвязи между показателями липидного обмена и риском развития ЛГ после ИМ.

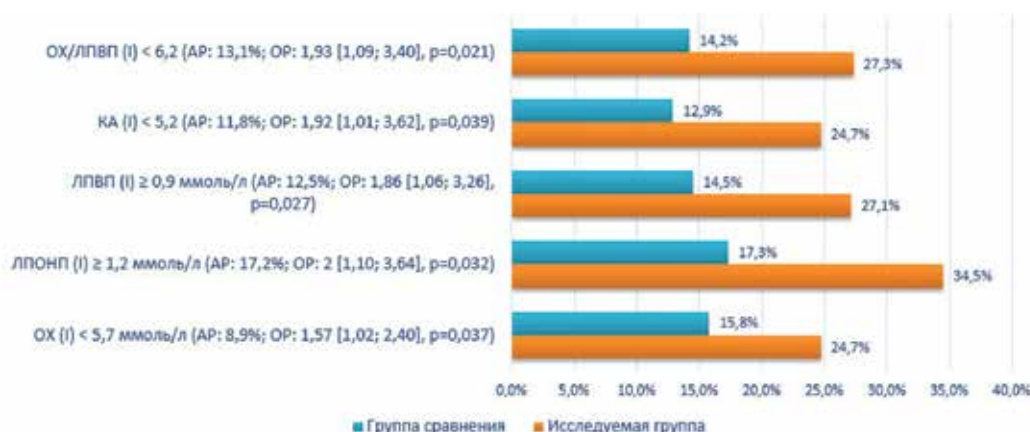


Рис. 1. Взаимосвязи между показателями метаболизма липидов начальных часов инфаркта миокарда и риском развития легочной гипертензии в подостром его периоде: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона



Рис. 2. Взаимосвязи между показателями обмена липидов окончания 3-й нед инфаркта миокарда и риском развития легочной гипертензии в этот период: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона

Значимые закономерности изменения рисков развития ЛГ у обследованных в зависимости от концентрации основных электролитов плазмы крови получены как для первых часов (рис. 3), так и для конца 3-й нед заболевания (рис. 4).

Из всех изученных факторов наличие наибольшего числа взаимосвязей для риска развития ЛГ в завершении подострого периода ИМ установлено в отношении параметров структурно-функцио-

нального состояния левых и правых камер сердца (рис. 5, 6). В первые 48 ч заболевания значимыми оказались такие показатели, как СИ, ИММЛЖ, КСО/С и КДО/С ЛЖ, размеры ЛП и толщина ЗС ЛЖ, ФВ ЛЖ и КДРпж.

В конце 3-й нед ИМ взаимосвязь с риском развития ЛГ выявлена для следующих параметров: размер правого предсердия (ПП), ИММЛЖ, толщина ЗС ЛЖ и поперечный размер ЛП.



Рис. 3. Взаимосвязи между концентрациями электролитов плазмы крови первых часов инфаркта миокарда и риском возникновения легочной гипертензии во второй точке измерения: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона



Рис. 4. Взаимосвязи между концентрациями электролитов плазмы крови окончания 3-й недели инфаркта миокарда и риском формирования легочной гипертензии в подостром его периоде: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона



Рис. 5. Взаимосвязи между параметрами структурно-функционального состояния сердца начальных часов инфаркта миокарда и риском развития легочной гипертензии во втором периоде исследования: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона



Рис. 6. Закономерности изменения показателей структурно-функционального состояния сердца в конце 3-й нед инфаркта миокарда и риска развития легочной гипертензии в этот период: p – уровень значимости, критерий χ^2 Пирсона

ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие полученного в настоящем исследовании статистически значимого влияния на формирование ЛГ таких параметров гемодинамики, как среднее АД и ЧСС, а также значимого увеличения ОЛС у пациентов исследуемой группы, подтверждает участие в патогенезе ЛГ во время ИМ стойкого сужения легочных сосудов помимо пассивного ретроградного увеличения давления в легочной артерии [2, 8, 13]. Обнаружено, что риск развития ЛГ в подостром периоде ИМ выше у пациентов с брадикардией, что вероятнее обусловлено длительным анамнезом сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся формированием атеросклеротического и (или) постинфарктного кардиосклероза, приводящего, в свою очередь, к уменьшению автоматизма синоаурикулярного узла [16]. Влияние величины ИСПСН на риск развития изучаемого осложнения не имеет самостоятельного прогностического значения, однако является косвенным отражением степени функциональной недостаточности миокарда. У пациентов исследуемой группы расчетное значение ИСПСН

составило менее 19,3%, что соответствует минимальной или умеренной степени недостаточности миокарда [16].

Выявленная взаимосвязь между риском развития ЛГ при ИМ и параметрами липидного обмена находит отражение в литературе. Показано, что реализация закономерностей взаимосвязанных изменений легочной гемодинамики и уровня липидов осуществляется через аполипопротеин А1- и Е-зависимые механизмы [17], при задействовании специфических звеньев регуляции, таких как микро-РНК [18], белок, связанный с трансформирующим фактором роста бета [19], а также экзосомы [20]. Электролитные изменения, обнаруженные у пациентов исследуемой группы, в частности увеличение концентрации натрия, свидетельствуют о включении усиленной активности гормонов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, задержке воды в организме, увеличении пред- и постнагрузки на миокард, возникновении и последующем нарастании диастолической его дисфункции, а также гипертрофии гладкомышечных клеток сосудов и фиброза их стенок [1, 14, 20]. Увеличение концентрации общего кальция в

сыворотке крови у пациентов исследуемой группы подтверждает отдельную роль данного иона и многочисленных кальциевых каналов в формировании ЛГ, за счет регуляции сужения и ремоделирования легочных сосудов [21].

Статистически значимое влияние на риск развития ЛГ показателей структурно-функционального состояния миокарда начальных часов заболевания свидетельствуют о наличии у пациентов, страдающих ЛГ, более выраженной систолической дисфункции ЛЖ, а также дилатации и ремоделирования левых отделов [8, 14], что является отражением патогенеза ЛГ на фоне заболеваний левых камер сердца [1]. Исходное увеличение КДРпж у пациентов исследуемой группы свидетельствует о меньшем адаптивном резерве правых камер сердца и является предпосылкой развития ЛГ в изучаемом периоде ИМ, а также выступает в качестве предиктора неблагоприятного прогноза [22].

Итогом проведенного исследования является подтверждение наличия статистически значимой связи ЛГ с дисфункцией ЛЖ, изменениями электролитного и липидного обмена. Тем не менее не стоит исключать влияния других вероятных причин ЛГ, учитывая их способность вносить дополнительный вклад в развитие и прогрессирование данной патологии. С целью определения наличия дисфункции миокарда ЛЖ как основного этиологического фактора ЛГ, а также для проведения дифференциальной диагностики с редко встречающимися синдромо-подобными состояниями в качестве причин повышения давления в системе легочной артерии рекомендуется определение концентрации В-типа N-концевого пептида натрийуретического гормона [23]. Также важной задачей является установление гемодинамических механизмов ЛГ в зависимости от степени легочного сосудистого сопротивления для инициации оптимальной терапии, что диктует необходимость ранней диагностики повышения давления в легочной артерии [1, 8, 24]. В дифференциальной диагностике ЛГ на фоне ИМ рекомендуется исключение ИМ правого желудочка и предсердий, разрывов межжелудочковой перегородки, скрытых ранее врожденных пороков сердца, а также выраженной митральной регургитации, требующей хирургической коррекции [3, 4, 25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено наличие ряда анамнестических, клинических и лабораторно-инструментальных маркеров, связанных с развитием ЛГ в подостром периоде ИМ. Их раннее выявление на этапе поступления в стационар позволяет сформировать среди пациен-

тов группу высокого риска развития этого осложнения для своевременного проведения необходимых диагностических и лечебных мероприятий в соответствии с алгоритмом. Максимально удобной, достоверной, неинвазивной и доступной в настоящее время методикой исследования, позволяющей верифицировать ЛГ на ранних стадиях, а также прогнозировать риск ее развития, является ЭХО-КГ. Это объясняет необходимость динамического определения уровня СДЛА при ее выполнении у пациентов группы высокого риска ЛГ в начальные периоды ИМ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Humbert M., Kovacs G., Hoeper M.M., Badagliacca R., Berger R.M.F., Brida M. et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.* 2023;61(1):2200879. DOI: 10.1183/13993003.00879-2022.
2. Maeder M.T., Schoch O.D., Kleiner R., Joerg L., Weilenmann D., Swiss Society For Pulmonary Hypertension. Pulmonary hypertension associated with left-sided heart disease. *Swiss Med. Wkly.* 2017;147:w14395. DOI: 10.4414/smw.2017.14395.
3. Çetin M., Özer S., Çinier G., Yılmaz A.S., Erdoğan T., Şatıroğlu Ö. Left atrial volume index and pulmonary arterial pressure predicted MACE among patients with STEMI during 8-year follow-up: experience from a tertiary center. *Herz.* 2021;46(4):367–374. DOI: 10.1007/s00059-020-04966-4.
4. Sannino A., Smith R.L., Schiattarella G.G., Trimarco B., Esposito G., Grayburn P.A. Survival and cardiovascular outcomes of patients with secondary mitral regurgitation: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Cardiol.* 2017;2(10):1130–1139. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.2976.
5. Fan X.T., Wang S.J., Mujahid H., Ji X.P. Effect of elevated pulmonary artery systolic pressure on short-term prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Angiology.* 2020;71(6):567–572. DOI: 10.1177/0003319720909056.
6. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2018;137(12):e67–e492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558.
7. Бойцов С.А., Погосова Н.В., Бубнова М.Г., Драпкина О.М., Гаврилова Н.Е., Еганян Р.А. и др. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Национальные рекомендации. *Российский кардиологический журнал.* 2018;23(6):7–122. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-6-7-122.
8. Chung K., Strange G., Codde J., Celermajer D., Scalia G.M., Playford D. Left heart disease and pulmonary hypertension: are we seeing the full picture? *Heart Lung Circ.* 2018;27(3):301–309. DOI: 10.1016/j.hlc.2017.09.015.
9. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur. Heart J.* 2019;40(3):237–269. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy462.
10. Kitabatake A., Iuone M., Asao M. Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation.* 1983;68(2):302–309. DOI: 10.1161/01.cir.68.2.302.

11. Вдовенко Д.В., Либов И.А., Либис Р.А. Тканевая доплерография и speckle-tracking эхокардиография в оценке функционального состояния миокарда левых отделов сердца у больных с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса. *Кардиология*. 2019;59(2):17–23. DOI:10.18087/cardio.2019.2.10227.
12. Galderisi M., Cosyns B., Edvardsen T., Cardim N., Delgado V., Di Salvo G. et al. 2016–2018 EACVI Scientific Documents Committee. Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imag.* 2017;18(12):1301–1310. DOI: 10.1093/ehjci/jex244.
13. Бартош-Зеленая С.Ю., Гусева О.А. Алгоритм проведения эхокардиографии и формирование заключения. СПб.: СПбГПУ, 2014:65.
14. Сотников А.В., Гордиенко А.В., Носович Д.В., Яковлев В.В., Егоренкова Е.В., Ковалев С.В. Неинвазивная оценка влияния клинических параметров на гемодинамику малого круга кровообращения у мужчин моложе 60 лет с инфарктом миокарда в начальные периоды заболевания. *Евразийский кардиологический журнал*. 2017;3:85.
15. Гордиенко А.В., Сотников А.В., Носович Д.В. Клинические критерии оценки качества жизни у мужчин молодого и среднего возраста в начальные периоды инфаркта миокарда. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2018;20(1):34–44.
16. Sidhu S., Marine J.E. Evaluating and managing bradycardia. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2020;30(5):265–272. DOI: 10.1016/j.tcm.2019.07.001.
17. Yao X., Gordon E.M., Figueroa D.M., Barochia A.V., Levine S.J. Emerging roles of apolipoprotein E and apolipoprotein A-I in the pathogenesis and treatment of lung disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2016;55(2):159–169. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0060TR.
18. Song Z., Gao R., Yan B. Potential roles of microRNA-1 and microRNA-133 in cardiovascular disease. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2020;21(1):57–64. DOI: 10.31083/j.rcm.2020.01.577.
19. Boratkó A., Csontos C. PKC mediated phosphorylation of TIMAP regulates PP1c activity and endothelial barrier function. *Biochimica et Biophysica acta. Molecular Cell Research*. 2017;1864(2):431–439. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.12.001.
20. Yuan Y., Du W., Liu J., Ma W., Zhang L., Du Z., Cai B. Stem cell-derived exosome in cardiovascular diseases: macro roles of micro particles. *Front. Pharmacol.* 2018;9:547. DOI: 10.3389/fphar.2018.00547.
21. Liu G., Fu D., Tian H., Dai A. The mechanism of ions in pulmonary hypertension. *Pulm. Circ.* 2021;11(1):1–20. DOI: 10.1177/2045894020987948.
22. Da Costa Junior A.A., Ota-Arakaki J.S., Ramos R.P., Uellendahl M., Mancuso F.J., Gil M.A. et al. Diagnostic and prognostic value of right ventricular strain in patients with pulmonary arterial hypertension and relatively preserved functional capacity studied with echocardiography and magnetic resonance. *Int. J. Cardiovasc. Imag.* 2017;33(1):39–46. DOI: 10.1007/s10554-016-0966-1.
23. McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baumbach A., Böhm M. et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.
24. Kabbach G., Mukherjee D. Pulmonary hypertension secondary to left heart disease. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2018;16(6):555–560. DOI: 10.2174/1570161115666170913105424.
25. Amorós-Figueras G., Roselló-Diez E., Sanchez-Quintana D., Casabella-Ramon S., Jorge E., Nevado-Medina J. et al. Changes in local atrial electrograms and surface ECG induced by acute atrial myocardial infarction. *Front. Physiol.* 2020;11:264. DOI: 10.3389/fphys.2020.00264.

Информация об авторах

Меньшикова Александра Николаевна – помощник начальника, учебно-методический отдел, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, aleksandra12591@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9422-4969>

Гордиенко Александр Волеславович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры госпитальной терапии, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, gord503@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6901-6436>

Сотников Алексей Владимирович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры госпитальной терапии, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, alexey_vs@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5913-9088>

Носович Дмитрий Владимирович – канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра госпитальной терапии, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, nozovich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2891-4747>

(✉) **Меньшикова Александра Николаевна**, aleksandra12591@mail.ru

Поступила в редакцию 08.12.2023;
одобрена после рецензирования 02.05.2024;
принята к публикации 13.06.2024

УДК 616.379-008.64-021.6-08:615.825.3:577.12
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94>

Эффекты принудительных беговых нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена у мышей с моделью сахарного диабета типа 2

Милованова К.Г.¹, Захарова А.Н.¹, Орлова А.А.¹, Коллантай О.В.¹, Шувалов И.Ю.¹,
Попов С.А.¹, Медведев М.А.², Ковалев И.В.², Якимович И.Ю.², Чибалин А.В.¹,
Капилевич Л.В.^{1, 2, 3}

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

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

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель: изучалось влияние принудительных физических нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена в тканях печени и скелетных мышц у мышей с моделью сахарного диабета типа 2 (СД2) с учетом возрастных и биоритмологических особенностей.

Материалы и методы. Для формирования модели заболевания использовалась высокожировая диета, физические нагрузки в виде принудительного бега проводились в течение 4 нед. Показатели липидного и углеводного обмена в тканях мышц и печени определялись методом вестерн-блоттинга.

Результаты. Снижение содержания гликогена в мышцах при СД2 в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфорилазы в тканях печени и скелетных мышц, на эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. Развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождалось снижением содержания липопротеинов высокой плотности в печени параллельно с возрастанием липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты.

В группе СД2 физические нагрузки носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. Эффекты физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечной ткани значительно различаются.

Заключение. Физические нагрузки могут выступать средством профилактики не только непосредственно метаболических нарушений (ожирение и инсулинорезистентность), но и сопутствующих осложнений со стороны печени и в дальнейшем сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: печень, скелетные мышцы, беговая нагрузка, сахарный диабет, ожирение

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 № 19-15-00118, <https://rscf.ru/project/19-15-00118-p>

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией по биоэтике Биологического института НИ ТГУ (протокол № 32 от 02.12.2019).

Для цитирования: Милованова К.Г., Захарова А.Н., Орлова А.А., Коллантай О.В., Шувалов И.Ю., Попов С.А., Медведев М.А., Ковалев И.В., Якимович И.Ю., Чибалин А.В., Капилевич Л.В. Эффекты принудительных беговых нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена у мышей с моделью сахарного диабета типа 2. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):82–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94>.

Effects of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in a mouse model of type 2 diabetes mellitus

Milovanova K.G.¹, Zakharova A.N.¹, Orlova A.A.¹, Kollantay O.V.¹, Shuvalov I.Yu.¹, Popov S.A.¹, Medvedev M.A.², Kovalev I.V.², Yakimovich I.Yu.², Chibalin A.V.¹, Kapilevich L.V.^{1,2,3}

¹National Research Tomsk State University
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

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

³National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effect of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in liver and skeletal muscle tissues of mice with a model of type 2 diabetes mellitus, taking into account age and biological rhythm characteristics.

Materials and methods. To create a model of type 2 diabetes mellitus (T2DM), a high-fat diet was used. Physical activity in the form of forced treadmill exercise was carried out for 4 weeks. Parameters of lipid and carbohydrate metabolism in muscle and liver tissues were determined by Western blotting.

Results. A decrease in glycogen content in the muscles in T2DM was associated with activation of its breakdown rather than with its reduced synthesis. Significant and multidirectional changes were recorded in the content of glycogen phosphorylase in the liver and skeletal muscle tissues. These changes were significantly influenced by both the nature of diet and physical activity. The development of T2DM in mice was accompanied by a decrease in high-density lipoprotein (HDL) content in the liver along with an increase in low-density lipoprotein (LDL) and very-low-density lipoprotein (VLDL) levels. It is worth noting that physical activity provided partial normalization of the ratio of lipid fractions, despite the fact that the exercises were performed in the context of a high-fat diet.

In the T2DM group, metabolic changes caused by both T2DM modeling and physical exercises were not only quantitative, but in some cases also qualitative. The effects of physical exercises performed at different times of the day on metabolic processes in the liver and muscle tissues varied significantly.

Conclusion. Physical activity can help prevent not only metabolic disorders (obesity and insulin resistance), but also associated complications on the part of the liver and cardiovascular system.

Keywords: liver, skeletal muscles, treadmill running, diabetes mellitus, obesity

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

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation grant No.19-15-00118, <https://rscf.ru/project/19-15-00118-p>

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at the Biological Institute of National Research Tomsk State University (Protocol No. 32 of 02.12.2019).

For citation: Milovanova K.G., Zakharova A.N., Orlova A.A., Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Popov S.A., Medvedev M.A., Kovalev I.V., Yakimovich I.Yu., Kapilevich L.V. Effects of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):82–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94>.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет типа 2 (СД2) – серьезное метаболическое заболевание, характеризующееся инсулинорезистентностью и снижением выработки инсулина, что приводит к аномальному повышению уровня глюкозы в крови. Сообщалось, что СД2 может вызывать окислительный стресс и воспалительные реакции, а также стимулировать различные осложнения, включая повреждение печени [1, 2].

Жировая болезнь печени, связанная с метаболической дисфункцией, и сахарный диабет являются двумя распространенными метаболическими нарушениями, которые часто сосуществуют и синергически способствуют прогрессированию друг друга [3]. В этой связи задействовано несколько патофизиологических путей, включая резистентность к инсулину, воспаление и липотоксичность, что дает основу для понимания сложных взаимосвязей между этими состояниями [4]. Дислипидемия оказывает существенное влияние на риск развития диабета и микро- и макрососудистых осложнений, а диабет существенно способствует повышению риска прогрессирования фиброза печени и развитию гепатоцеллюлярной карциномы. Более того, обе патологии оказывают синергетический эффект на сердечно-сосудистые события и смертность [5].

Печень помогает поддерживать нормальную концентрацию глюкозы в крови как натощак, так и после приема пищи. Потеря инсулина оказывает влияние на печень, приводя к гликогенолизу и увеличению продукции глюкозы печенью. Аномалии хранения триглицеридов и липолиз в инсулин-чувствительных тканях, таких как печень, являются ранними проявлениями состояний, характеризующихся резистентностью к инсулину, и выявляются раньше, чем гипергликемия натощак [2].

Одной из моделей формирования диабета является содержание животных на высокожировой диете. Питание с высоким содержанием жиров может привести к ожирению, гиперинсулинемии и измененному гомеостазу глюкозы из-за недостаточной компенсации со стороны островков Лангерганса. Поскольку ожирение в этом случае вызвано манипуляциями с питанием, а не с цитотоксическими веществами, считается, что такие модели более сходны с заболеванием у человека [6–8].

Физические нагрузки разной интенсивности приводят к запуску большого количества биохимических, молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов, лежащих в основе адаптационных реакций организма на физиологический стресс [9]. В частности, показано, что физические нагрузки оказывают положительное воздействие при метаболических нарушениях [10]. Эксперименты с животными доказали, что физическая нагрузка повышает чувствительность к инсулину и улучшает толерантность к глюкозе, вызванную диетой с высоким содержанием жира, не только у самих животных, но и у их потомков [10]. Также показано, что циркадные ритмы влияют на эффект от физических упражнений. Поглощение глюкозы мышцами и толерантность к инсулину также имеет циркадный характер, и эффекты физических тренировок связаны с циркадной ритмичностью данных показателей [11].

В связи со всем изложенным цель нашего исследования – изучить влияние принудительных физических нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена в тканях печени и скелетных мышц у мышей с моделью СД2 с учетом возрастных и биоритмологических особенностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали мышей-самцов линии C57bl/6. Мыши были получены из вивария НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра РАН. Режим содержания животных: день 12 ч, ночь 12 ч, начало светового дня 6.00 ч, свободный доступ к пище и воде, температура в помещении 24 °C.

Исследование проведено в соответствии с принципами Базельской декларации и одобрено комиссией по биоэтике Биологического института НИ ТГУ (протокол № 32 от 2 декабря 2019 г.).

В эксперименте использовались две группы мышей: молодые (112 мышей, возраст на момент начала эксперимента – 4 нед) и возрастные (112 мышей, возраст на момент начала эксперимента – 32 нед). Эксперимент длился 16 нед. До 12-й нед мышей делили на две подгруппы: на жировой диете

(56 мышей), получавшие стандартный рацион (56 мышей).

Для формирования модели СД2 использовалась высокожировая диета в течение 12 нед, разработанная специально для данного эксперимента. Состав и энергетическая ценность корма подробно описаны в нашей предыдущей работе [12].

Начиная с 12-й нед каждая группа животных была разделена на две подгруппы: подвергавшиеся (основная – 21 животное) и не подвергавшиеся (контроль – 7 животных) форсированным беговым нагрузкам.

Разные подгруппы мышей основной группы подвергались беговой нагрузке в разное время суток. Группа А – подвергавшиеся беговой нагрузке в светлое время суток (8.00–10.00 ч) – 7 животных. Группа Б – подвергавшиеся беговой нагрузке в темное время суток (19.00–21.00 ч) – 7 животных. Группа С – время форсированной беговой нагрузки чередовалось (посменный режим тренировок): 1-я и 3-я нед в темное время суток (19.00–21.00 ч), 2-я и 4-я нед – в дневное время (8.00–10.00 ч) – 7 животных.

Для нормализации физической нагрузки использовали беговую дорожку для мышей BMELAB SID-TM10 [13]. Форсированные беговые нагрузки проводились в течение 4 нед 6 раз/нед, продолжительность нагрузки постепенно увеличивалась в течение первых 6 сут с 10 до 60 мин (увеличение на 10 мин/сут) и более не менялась в течение последующих 3 нед. Каждую неделю меняли угол подъема беговой дорожки (от 0 до 10°) и скорость ее вращения (от 15 до 18 м/мин). Раз в неделю нагрузку не выполняли (на 7-е сут). Массу тела каждого животного измеряли с помощью лабораторных весов. Измерения проводились 11 раз в течение 16 нед.

Забой подопытных животных проводили декапитацией через 24 ч после последней нагрузки. С обеих задних конечностей выделялись *m. gastrocnemius*, мышечная ткань очищалась от соединительной и жировой ткани. Из брюшной полости извлекалась печень, очищалась от окружающих тканей.

Гомогенизация мышечной и печеночной тканей проводилась следующим образом: перед лизированием ткань сначала нарезали скальпелем на стеклянной пластине, удерживаемой на льду, на маленькие кусочки размером около 1 мм. Затем их переносили в холодный 1X RIPA Buffer (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 0,5 mM Na₃VO₄, 1% Triton X-100, 10%-й глицерол, 20 mM Трис pH 7,8, 1 мкг/мл Leupeptin, 0,2 mM PMSF, 10 mM NaF, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 5 mM Na pyrophosphate, Benzamidin 100 mM 1 mM 0,5 мл 1 мл) в пробирки с герметичными крышками и утолщенными стенками.

Использовали 50 мл буфера на 20 мг влажной мышечной ткани. Во время обработки материал хранился на льду. Затем в пробирки помещали металлические шарики диаметром 5 мм (Qiagen, Германия). Пробирки ставили в вихревой лабораторный миксер Digital Vortex-Genie 2 (Scientific Industries, Inc., США) на 15 мин при 4 °С. После чего оставляли на мини-ротатор-шейкере (MP-1, Biosan, Латвия) в холодильнике на 1 ч. Затем центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при 4 °С, после чего переносили прозрачный супернатант в новые пробирки с четкой маркировкой. Брали 30 мкл для определения концентрации тотального белка в пробе (методом Бредфорда).

В гомогенате тканей определялись следующие показатели. Мышечная ткань – гликоген, лактат, гликоген-синтаза (GYS1), фосфоорилаза гликогена (PYGM). Ткань печени – гликогенсинтаза печени (GYS2), гликогенфосфоорилаза печени (PYGL), липопротеины высокой плотности (HDL), липопротеины низкой плотности (LDL), липопротеины очень низкой плотности (VLDL), аланинаминотрансфераза (ALT), аспартатаминотрансфераза (AST).

Анализы проводились с помощью готовых наборов с использованием микропланшетного фотометра Anthos 2010 с программным обеспечением (Biochrom Ltd., Великобритания). Пробоподготовка, выполнение колориметрического анализа и расчеты полученных данных проводились согласно протоколу производителя. Получение гомогената ткани проводилось по схеме для образца весом менее 100 мг. Определение концентрации тотального белка в пробе проводилось модифицированным методом Бредфорда.

Электрофорез ПААГ проводили в денатурирующих условиях и согласно методу, описанному ранее (Laemmli, 1970), с 5%-м концентрирующим и 7%-м разделяющим гелями с использованием системы для проведения электрофореза (ячейка для электрофореза (Mini-PROTEAN Tetra, США), источник тока (PowerPacBasic, США)). Количество тотального белка, наносимого в каждую лунку, 7,5 мкг. С помощью системы для проведения блоттинга (Trans-Blot Turbo, США) белки переносили из геля на PVDF-мембрану (BioRad, США) с последующим блокированием 5%-м обезжиренным молоком (BioRad, США) в TBSt 1X (TBS с добавлением 0,1%-го tween 20) в течение 1 ч при комнатной температуре. Искомые белки определяли инкубацией при 4 °С в 5%-м сухом молоке в TBSt в течение ночи в разведении 1 : 1 000 с кроличьими поликлональными антителами против цитратсинтазы (кат. № ab96600, abcam, Великобритания) и коктейлем с антителами Total OXPHOS

Rodent WB (кат. № ab110413, abcam, Великобритания), содержащим пять мышинных антител, по одному против субъединиц NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MTCO1, ATP5A. Затем образец инкубировали с HRP-конъюгированным вторичным антителами (против мышинных антител кат. № 1706516, против кроличьих антител кат. № 1706515, BioRad, США) в течение 1 ч при комнатной температуре в 3%-м сухом молоке в TBSt. Комплексы «антиген – антитело» визуализировали с использованием набора ECL (SuperSigna West Dura, Thermo Scientific, США) и документирующей системы (ChemiDoc-It 2, UVP, Великобритания). Денситометрический анализ проводили с использованием программного обеспечения ImageJ.

Иммуноблоттинг. Белки переносили из геля на PVDF-мембрану (BioRad, США) в буфере для переноса (25 мМ трис – 192 мМ глицин (pH 8.3), 20%-й этанол) в течение 1,5 ч при силе тока 400 мА. Для проверки качества переноса белков на мембрану окрашивали красителем Ponceau S. Краситель обратимо связывался с белками, окрашивая их в красный цвет. Для подготовки мембраны к иммунохимическому окрашиванию ее промывали несколько раз в растворе TBS (50 мМ Трис; pH 7,4; 150 мМ NaCl). Далее проводили блокирование 5%-м сухим обезжиренным молоком (Valio, Финляндия), приготовленным на PBST (PBS с добавлением 0,1%-го tween 20). Блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре и при постоянном перемешивании. Затем мембрану переносили в раствор TBST (50 мМ Трис; pH 7,4; 150 мМ NaCl; 0,1%-й tween 20), содержащий 5%-й БСА и первичные антитела (соотношение 1 : 1 000 по объему), и оставляли на 14–17 ч при 4 °C и постоянном перемешивании. Далее мембрану трехкратно промывали по 15 мин раствором TBST и после этого инкубировали при комнатной температуре при постоянном перемешивании в отдельной посуде 1 ч в 10 мл раствора TBST, содержащего 5%-е сухое обезжиренное молоко и вторичные антитела в соотношении 1 : 5 000, конъюгированные с пероксидазой из хрена. Затем мембрану промывали 3 раза раствором TBST в течение 15 мин.

Полосы образовавшихся комплексов белков с первичными и вторичными антителами на мембране визуализировали, используя метод усиленной хемилюминесценции (ECL), с помощью набора хемилюминесценции (SuperSigna West Dura, Thermo Scientific, США), проявляя мембраны на документирующей системе (ChemiDoc-It 2, UVP, Великобритания). Денситометрический анализ проводили с использованием программного обеспечения ImageJ.

Статистическую обработку данных проводили с

использованием пакета GraphPad Prism (академическая лицензия № 1531155, действует до 21.12.2024). Уровень значимости при проверке гипотезы принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности оценивали по критерию Краскела – Уоллиса, тесту ANOVA. Все данные имели ненормальное распределение признака. Для сравнения групп использовался двусторонний дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Тьюки и поправкой Холма – Сидака. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В предыдущей публикации [14] мы описали динамику массы тела мышей в процессе эксперимента. Уже начиная с 4-й нед, наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела мышей, получавших жировую диету ($p < 0,05$). На 12-й нед различия между группой, находящейся на высокожировой диете, и группой, питающейся стандартным кормом, увеличились.

Начиная с 12-й нед, обе группы были разделены на четыре подгруппы, в которых воздействие физической нагрузки оказывалось в разное время суток (утром, вечером и попеременно утром и вечером). На 16-й нед (заключительной) эксперимента мы наблюдали, что в группах мышей на высокожировой диете, и мышей, которые питались нормальным кормом, показатели разницы по массе тела остались статистически значимы ($p < 0,05$).

У группы с жировым типом питания статистически значимые различия ($p < 0,05$) по массе тела с контрольной группой наблюдались у всех трех подгрупп, на которых оказывалось влияние физической нагрузки. Самой эффективной оказалась нагрузка с попеременным воздействием физической нагрузки. В данной группе масса тела ниже в 1,2 раза, чем в контрольной группе.

В первой части работы мы исследовали содержание гликогена, лактата, а также ферментов углеводного обмена в тканях скелетных мышц и печени. Содержание гликогена в мышцах у молодых животных, получавших жировую диету, снижалось на 20%. Физические нагрузки приводили к возрастанию содержания гликогена в мышечной ткани у мышей, получавших стандартную диету, и не влияли на данный показатель в группе животных, получавших жировую диету (табл. 1).

У возрастных животных содержание гликогена в мышечной ткани было ниже, чем у молодых, на 12%. Питание жировой диетой приводило к снижению данного показателя на 17%.

Таблица 1

Показатели углеводного обмена в тканях скелетных мышц и печени мышей, нг/мл, $Me (Q_1; Q_3)$, $n = 6$

Диета	Возраст	Нагрузки	Скелетные мышцы				Печень	
			GYS1	PYGM	Гликоген	Лактат	GYS2	PYGL
Стандартная	Молодые	Контроль	2172,36 (2137,53; 2364,49)	2,2 (1,6; 2,9)	1,5 (1,47; 1,53)	5,7 (5; 6,35)	4385,71 (4257,14; 4814,29)	18,7 (16,5; 22)
		Утро	2590,34 (2335,28; 2638,65) $p_3 \leq 0,05$	1,6 (1,2; 1,8) $p_3 \leq 0,05$	1,78 (1,78; 1,78) $p_3 \leq 0,05$	5 (4,6; 5,2) $p_3 \leq 0,05$	4700 (4528,57; 4957,14) $p_3 \leq 0,05$	18,7 (15,95; 20,35)
		Вечер	2519,55 (2281,35; 2755,51) $p_4 \leq 0,05$	2 (1,8; 2,4) $p_6 \leq 0,05$	1,72 (1,69; 1,75) $p_4 \leq 0,05$	5,4 (5,1; 5,7)	4750 (4657,14; 4839,29) $p_4 \leq 0,05$	19,8 (18,84; 21,86)
		Shift	2574,61 (2518,43; 2668,99) $p_5 \leq 0,05$	1,4 (0,8; 1,9) $p_3 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,78 (1,72; 1,83) $p_5 \leq 0,05$	5 (4,4; 5,6) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4778,57 (4585,71; 4978,57) $p_5 \leq 0,05$	24,2 (23,1; 24,75) $p_3 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$
	Взрослые	Контроль	2184,72 (2063,37; 2270,11) =	1,2 (1,2; 1,6) $p_2 \leq 0,001$	1,33 (1,28; 1,5) $p_2 \leq 0,05$	4,4 (4; 4,8) $p_2 \leq 0,05$	5185,71 (5071,43; 5328,57) $p_2 \leq 0,05$	17,33 (15,81; 19,94) $p_2 \leq 0,05$
		Утро	2652,13 (2595,96; 2747,08) $p_3 \leq 0,05$	2,4 (2,2; 3) $p_2 \leq 0,01$ $p_3 \leq 0,001$	1,72 (1,31; 2,11) $p_3 \leq 0,05$	2 (1,9; 2,1) $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \leq 0,001$	5457,14 (4857,14; 5671,43) $p_2 \leq 0,05$	19,25 (19,25; 19,8) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	2356,63 (2291,46; 2449,89) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	2,2 (2; 2,4) $p_4 \leq 0,05$	1,28 (1,19; 1,36) $p_2 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	3 (2,8; 3,2) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	4900 (4757,14; 4914,29) $p_6 \leq 0,05$	17,6 (17,6; 19,8) $p_2 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$
		Shift	3155,51 (2974,04; 3194,27) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	2,8 (2,4; 3,2) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,78 (1,67; 2,03) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	2 (1,6; 2,8) $p_2 \leq 0,001$ $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	5392,86 (5178,57; 5842,86) $p_2 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	29,7 (29,15; 30,25) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,01$ $p_7 \leq 0,01$ $p_8 \leq 0,01$
Жировая	Молодые	Контроль	2122,92 (2073,48; 2227,42)	4 (4; 5) $p_1 \leq 0,05$	1,22 (1,17; 1,28) $p_1 \leq 0,05$	5,2 (4,9; 5,53) $p_1 \leq 0,05$	4228,57 (3928,57; 4414,29)	22 (18,7; 23,24) $p_1 \leq 0,05$
		Утро	3100,45 (2761,12; 3165,62) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	2 (1,8; 2,8) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,001$	1 (0,94; 1,06) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	3,2 (2,8; 3,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,001$	4442,86 (4242,86; 4771,43) $p_1 \leq 0,05$	16,5 (16,5; 17,05) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	2963,37 (1947,64; 3173,48) $p_4 \leq 0,05$	2,6 (1,3; 2,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	1,22 (1,11; 1,33) $p_1 \leq 0,05$	4,2 (3,7; 4,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	4464,29 (3925; 4589,29) $p_4 \leq 0,05$	16,5 (15,4; 16,91) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$
		Shift	2644,27 (2606,07; 2670,11) $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,8 (0,9; 2,7) $p_3 \leq 0,05$	1,11 (1,06; 1,17) $p_1 \leq 0,05$	2,8 (1,8; 3,8) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4892,86 (4696,43; 5221,43) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	17,6 (17,05; 19,25) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
	Взрослые	Контроль	2365,62 (2181,35; 2431,91)	2,8 (2,6; 3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	1,0 (0,74; 1,28) $p_1 \leq 0,05$	4,4 (4,1; 4,8) $p_2 \leq 0,05$	5145,71 (5117,14; 5321,43) $p_2 \leq 0,05$	15,75 (14,06; 16,58) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
		Утро	2489,21 (2448,76; 2709,44) $p_2 \leq 0,05$	2,8 (2,2; 2,8) $p_2 \leq 0,05$	1,22 (0,89; 1,22) $p_1 \leq 0,05$	4,6 (3,9; 5,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	4985,71 (4707,14; 5250) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	15,4 (14,16; 15,95) $p_1 \leq 0,05$
		Вечер	2442,02 (2398,2; 2515,06)	2,6 (2,5; 2,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	1,27 (1,17; 2,5)	5 (4,2; 5,3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	4814,29 (4575; 5042,86) $p_2 \leq 0,05$	15,68 (13,61; 17,15) $p_1 \leq 0,05$

Окончание табл. 1

Диета	Возраст	Нагрузки	Скелетные мышцы				Печень	
			GYS1	PYGM	Гликоген	Лактат	GYS2	PYGL
Жировая	Возрастные	Shift	2668,99 (2636,4; 2691,46) $p_1 \leq 0,05$	2,2 (2,1; 2,3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,26 (1,04; 1,47) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$	2,4 (2,4; 3,4) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,01$ $p_7 \leq 0,001$ $p_8 \leq 0,001$	4771,43 (4621,43; 4957,14) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$	19,8 (18,7; 23,65) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2: p_1 – достоверность различий между группами, получавшими стандартную и жировую диету; p_2 – достоверность различий между группами молодых и возрастных мышей; p_3 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в утренние часы; p_4 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в вечерние часы; p_5 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в переменном режиме (shift); p_6 – достоверность различий между группами, получавшими нагрузку в утренние и вечерние часы; p_7 – достоверность различий между группами, получавшими нагрузку в вечерние часы и в переменном режиме (shift).

В обеих группах физическая нагрузка, предъявляемая утром или в переменном режиме, способствовала возрастанию содержания гликогена, тогда как предъявляемая в вечернее время не влияла на данный показатель (см. табл. 1).

Содержание лактата в мышцах у молодых животных, получавших жировую диету, снижалось на 9%. Регулярные физические нагрузки приводили к снижению содержания лактата в мышечной ткани у обеих групп молодых мышей. В группе животных, получавших жировую диету, снижение было выражено в большей степени и при переменном режиме нагрузки достигало 50% (см. табл. 1). У возрастных животных содержание лактата в мышечной ткани было ниже, чем у молодых, на 25%, в то же время питание жировой диетой не влияло на содержание лактата. В группе животных, получавших стандартную диету, регулярные физические нагрузки приводили к снижению содержания лактата в мышцах в 1,5–2 раза (более выражен был эффект нагрузок, предъявляемых утром или в переменном режиме). У возрастных мышей, получавших жировую диету, физическая нагрузка в переменном режиме способствовала снижению содержания лактата вдвое, тогда как предъявляемая в утреннее или вечернее время не влияла на данный показатель (см. табл. 1).

Изменение содержания гликогенсинтазы в тканях мышц и печени в целом носило сходный характер (см. табл. 1). У молодых животных, получавших жировую диету, содержание данного фермента не изменялось ни в ткани мышц, ни в ткани печени. В то же время физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в обеих тканях, причем наибольший эффект имели нагрузки, предъявляемые в переменном режиме. У возрастных животных жировая диета также не оказывала влияние на содержание гликогенсинтазы, однако эффекты физических нагрузок различались.

В группе животных, получавших стандартную диету, содержание фермента существенно увеличивалось как в мышечной, так и в печеночной ткани. В то же время у возрастных животных, получавших стандартную диету, содержание гликогенсинтазы увеличивалось в мышечной ткани, но снижалось в ткани печени. В обоих случаях наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в переменном режиме.

Изменение содержания гликогенфосфоорилазы в тканях мышц и печени, напротив, имело целый ряд существенных различий (см. табл. 1). У молодых животных, получавших стандартную диету, физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в печени и к снижению в мышечной ткани, причем наибольший эффект имели нагрузки, предъявляемые в переменном режиме. У молодых животных, получавших жировую диету, содержание данного фермента вдвое возрастало в мышечной ткани и всего на 10% в ткани печени. В то же время физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в мышцах, тогда как в печени его содержание, напротив, снижалось. У возрастных животных жировая диета не оказывала влияние на содержание гликогенфосфоорилазы в мышцах, тогда как в печени наблюдалось снижение на 12%. Регулярные физические нагрузки приводили к увеличению содержания фермента в обоих типах тканей, однако в группе животных, получавших стандартную диету, эффект физических нагрузок был выражен в большей степени. Здесь также наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в переменном режиме.

Во второй части работы мы исследовали содержание липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности в ткани печени у мышей, а также содержание аминотрансфераз ALT, AST (табл. 2).

Таблица 2

Показатели липидного обмена и содержание аминотрансфераз в ткани печени мышей, нг/мл, $Me (Q_1; Q_3)$, $n = 6$

Диета	Возраст	Нагрузки	HDL	LDL	VLDL	ALT	AST
Стандартная	Молодые	Контроль	2053 (1771,7; 2420)	1390,8 (1367,8; 1436,8)	6338,4 (5294,2; 7581)	101,6 (85,6; 108,4)	308,8 (306; 332,4)
		Утро	1800 (1540; 1020) $p_3 \leq 0,05$	1282,8 (1282,8; 1340,2) $p_3 \leq 0,05$	4330,8 (3691,2; 4893,2) $p_3 \leq 0,05$	126,2 (114,7; 140,7) $p_3 \leq 0,05$	378 (377,2; 398,2) $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	1673,8 (1554,3; 1877,9) $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	1308,1 (1276,15; 1352,9)	5956 (4698,6; 6926,6) $p_6 \leq 0,05$	118 (103,5; 128,4) $p_4 \leq 0,05$	323,4 (296,6; 369,4) $p_6 \leq 0,05$
		Shift	968,8 (937,6; 1234,4) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1298,9 (1273; 1344,85) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4691,2 (4180,2; 5250) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	154,8 (128,4; 172,4) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	392,8 (342,8; 397,2) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$
	Возрастные	Контроль	1674 (1586,8; 1739,2) $p_2 \leq 0,001$	2057,4 (2051,7; 2235,6) $p_2 \leq 0,001$	7544,2 (6672,8; 8099,4) $p_2 \leq 0,05$	72 (59,2; 82,8) $p_2 \leq 0,05$	188,8 (166,4; 192,8) $p_2 \leq 0,001$
		Утро	1858,6 (1755,4; 1907,5) $p_3 \leq 0,05$	1155,1 (1054,55; 1272,95) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	5985,2 (4930; 6014,7) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	63,6 (60,6; 67,8) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	160 (134,4; 187,6) $p_2 \leq 0,05$
		Вечер	1674 (1608,8; 1717,2) $p_6 \leq 0,05$	1120,7 (1040,25; 1281,6) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	6058,8 (5573,6; 6110,2) $p_4 \leq 0,05$	84,4 (169,1; 199,4) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	168 (156,2; 180,4) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$
		Shift	2120 (1932,4; 2140) $p_2 \leq 0,01$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1195,4 (1103,5; 1290,2) $p_5 \leq 0,05$	4279,4 (3558,7; 4853,1) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	93,6 (83,4; 97,6) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	192,2 (182,5; 236,2) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$
Жировая	Молодые	Контроль	1630,6 (1540,3; 1699,1) $p_1 \leq 0,05$	1602,2 (1567,8; 1648,2) $p_1 \leq 0,05$	7029,6 (6956; 7382,4) $p_1 \leq 0,05$	133,8 (123,3; 159,8) $p_1 \leq 0,05$	324,4 (305,6; 347,2) $p_1 \leq 0,05$
		Утро	1708,8 (1632,6; 1774) $p_1 \leq 0,05$	1247,2 (1181,1; 1324,75) $p_3 \leq 0,01$	5073,6 (5029,4; 6308,8) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,001$	100,4 (94,1; 103,3) $p_3 \leq 0,05$	243,2 (240,4; 257,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	1741,2 (1681,5; 1789) $p_4 \leq 0,05$	1396,5 (1281,55; 1497,1) $p_4 \leq 0,05$	6647 (6022; 6988,9) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	119,2 (104,5; 129,9) $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	316 (280,8; 332,4) $p_6 \leq 0,05$
		Shift	1752 (1710,8; 1795,3) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$	1206,9 (1181,05; 1224,15) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4926,4 (4625; 6213,2) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	99,2 (94,8; 108,4) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	231,2 (213,9; 243,1) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$
	Возрастные	Контроль	1439,2 (1409,2; 1550) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	2811,4 (2711,4; 3083,25) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	8088,4 (7639,8; 9051,6) $p_2 \leq 0,05$	98,6 (92,9; 101,6) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	178,2 (156,3; 205,4) $p_2 \leq 0,05$
		Утро	1695,6 (1489,2; 1695,6) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	2195,4 (2091,9; 2264,35) $p_1 \leq 0,01$ $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	6558,8 (6492,6; 6945,6) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	84,2 (69,8; 93,6) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	175,6 (174,6; 176,6) $p_2 \leq 0,05$
		Вечер	1674 (1625,1; 1695,7) $p_4 \leq 0,05$	2172,4 (2155,2; 2287,3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	7257,4 (7005,9; 7393,4) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	77,2 (73,8; 86) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	185 (164,5; 207,7) $p_2 \leq 0,05$

Окончание табл. 2

Диета	Возраст	Нагрузки	HDL	LDL	VLDL	ALT	AST
		Shift	2000 (1934,8; 2040) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	2092 (2063,2; 2155,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$	5132,4 (4500; 5577,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	77,2 (77,2; 80) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$	188,4 (181; 198,9) $p_2 \leq 0,05$

У молодых мышей, получавших жировую диету, содержание HDL в печени снижалось на 20%, тогда как содержание LDL и VLDL возрастало на 15 и 10% соответственно. Физические нагрузки приводили к достоверному снижению всех трех показателей у мышей, получавших стандартную диету. У животных, получавших жировую диету, мы наблюдали некоторое увеличение содержания HDL в печени наряду с достоверным снижением LDL и VLDL под влиянием физических нагрузок (см. табл. 2). Во всех случаях наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в утренние часы и в переменном режиме.

У возрастных мышей содержание HDL в печени несколько ниже, а содержание LDL и VLDL, напротив, несколько выше, чем у молодых животных. Эффекты физических нагрузок в группах возрастных животных были выражены в большей степени, чем у молодых мышей.

Содержание HDL в печени возрастало в 1,5 раза, а содержание LDL и VLDL снижалось, причем снижение VLDL было более существенным – в некоторых случаях – в 2 раза (см. табл. 2). Традиционно наиболее эффективными были нагрузки, применяемые в утренние часы и в переменном режиме.

У молодых мышей, получавших жировую диету, содержание ALT и AST в печени возрастало на 30 и 5% соответственно. Физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания обоих ферментов в печени у мышей, получавших стандартную диету. При применении нагрузок в переменном режиме прирост составлял 30–50%. В то же время у животных, получавших жировую диету, мы наблюдали снижение содержания данных ферментов в ткани печени в 1,5 раза. Здесь также наибольший эффект наблюдался при применении нагрузок в переменном режиме (см. табл. 2).

У возрастных мышей мы наблюдали значительное снижение содержания ALT и AST в печени. У животных, получавших жировую диету, несколько увеличивалось содержание ALT в печени. Физические нагрузки у мышей, получавших стандартную диету, приводили к разнонаправленным эффектам. Нагрузки, применяемые в утренние часы, способ-

ствовали снижению содержания обоих ферментов в ткани печени, тогда как нагрузки, применяемые в переменном режиме – напротив, к значительному увеличению (см. табл. 2). У возрастных животных, получавших жировую диету, физические нагрузки приводили к снижению содержания ALT и возрастанию содержания AST, наиболее были выражены эффекты нагрузок, применяемых в переменном режиме.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения (масса тела более чем на 25% выше, чем в контрольной группе). Принудительные физические нагрузки в виде ежедневного бега на тредмиле оказывают выраженный эффект на метаболизм у мышей с моделью СД2. Прежде всего, это проявляется в снижении массы тела животных и зависит от времени суток, в которое выполняется нагрузка.

Как мы уже упоминали выше, печень играет важную роль в регуляции углеводного и липидного обмена и, как следствие, становится мишенью патологических процессов при их нарушении, в первую очередь, при СД2 [15]. Мышцы содержат самый большой резервуар гликогена, депо которого тщательно регулируется и влияет на чувствительность к инсулину. В нашем исследовании мы зафиксировали снижение содержания гликогена в мышцах при развитии метаболических расстройств. Важно, что на фоне жировой диеты физические упражнения не способны восстановить депо гликогена, тогда как у животных, получавших стандартную диету, на фоне регулярной физической нагрузки запасы гликогена в мышцах существенно возрастают. По данным J. He, D.E. Kelley, снижение гликогена в мышцах коррелирует со снижением окислительной способности митохондрий и накоплением липидов в мышечной ткани, а также непосредственно связано с уровнем инсулинорезистентности [16]. Непропорциональность этих взаимосвязей может играть определенную роль в патогенезе внутриклеточных ме-

таболических расстройств при СД2. В то же время наблюдаемые изменения лактата после регулярных физических нагрузок, по всей вероятности, связаны с тренировочным эффектом на сердечно-сосудистую систему и слабо связаны с метаболическими перестройками в мышечной ткани.

Снижение содержания гликогена, по всей видимости, в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Об этом свидетельствует тот факт, что содержание гликогенсинтазы как в мышцах, так и в печени не изменялось при формировании метаболических расстройств у мышей, зато увеличивалось при физических нагрузках, причем в большей степени у здоровых животных. Таким образом, данный фермент в большей степени действует при физических нагрузках, чем при патогенезе метаболических расстройств.

Зато значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфоорилазы в ткани печени и скелетных мышц. На эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. По всей вероятности, данный фермент вовлекается как в механизмы развития патологических процессов, так и в механизмы адаптивных эффектов двигательной активности. Об этом свидетельствуют часто противоположно направленные изменения содержания гликогенфосфоорилазы в мышечной и печеночной ткани при физических нагрузках.

Механизмы выявленных различий реакции углеводного обмена на физическую нагрузку у здоровых животных и животных с СД2 могут быть связаны с перестройкой механизмов экспрессии генов при метаболических нарушениях. Так, анализ путей дифференциально регулируемых генов при физической нагрузке выявил усиление регуляторов GLUT4 (SLC2A4RG, FL0T1, EXOC7, RAB13, RABGAP1 и CBLB), гликолиза (HK2, PFKFB1, PFKFB3, PFKM, FBP2 и LDHA) и медиаторов сигнала инсулина у больных диабетом лиц по сравнению со здоровыми [17]. Примечательно, что больные СД2 также продемонстрировали вызванную физической нагрузкой компенсаторную регуляцию генов, участвующих в биосинтезе и метаболизме аминокислот (PSPH, GATM, NOS1 и GLDC), которая реагировала на различия в аминокислотном профиле (последовательно более низкие уровни глицина, цистеина и аргинина в плазме).

Выше мы уже упоминали о тесной связи СД2 с нарушениями липидного обмена в печени. Данные расстройства синергически способствуют прогрессированию друг друга. В этой связи задействовано несколько патофизиологических путей, включая

резистентность к инсулину, воспаление и липотоксичность [3]. Наши результаты хорошо соотносятся с данной точкой зрения – развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождалось снижением содержания HDL в печени параллельно с возрастанием LDL и VLDL. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты. Таким образом, можно утверждать, что физическая активность способна частично нивелировать патологические эффекты жировой диеты даже без коррекции режима питания.

Механизм такого эффекта можно связать с усилением продукции противовоспалительных миокинов под влиянием физической нагрузки, которые способны обеспечить блокаду факторов хемотаксиса, таких как хемотрактантный белок-1 моноцитов и (или) блокаду провоспалительных медиаторов, таких как IL-1 β , TNF α , висфатин и ингибитор активатора плазминогена-1 и (или) повышенный синтез адипокинов, таких как адипонектин и апелин [17].

Важным аспектом наших результатов являются выявленные многочисленные различия в возрастном аспекте – в группе возрастных мышей метаболические перестройки, вызванные как моделированием СД2, так и физическими нагрузками, носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. В целом просматривается вполне ожидаемая зависимость – в группе возрастных животных нарушения со стороны углеводного и липидного обмена были более выражены, а корригирующий эффект физических нагрузок в большинстве случаев был слабее [18]. Однако мы зафиксировали целый ряд исключений, отличающих возрастных животных от молодых: например снижение содержания гликогенсинтазы и возрастание гликогенфосфоорилазы в ткани печени. Также качественные различия были выявлены со стороны аминотрансфераз печени.

Интерес представляет тот факт, что эффекты физических нагрузок на содержание липидных фракций в печени в группах возрастных животных были выражены в большей степени, чем у молодых мышей. В свете высказанной выше гипотезы о роли миокинов и адипокинов в этих процессах можно предположить, что данная особенность может быть связана с большим объемом жировой ткани у возрастных животных.

Объяснение выявленных различий может быть связано с особенностями транскрипции мышечных генов в ответ на физическую нагрузку. В работе U. Raue и соавт. выявлен 661 ген, экспрессия

которых различалась при выполнении нагрузки с отягощениями у молодых и пожилых людей [19].

Наибольший интерес вызывают результаты, свидетельствующие о существенном различии эффектов физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечной ткани. Практически во всех случаях наименьшим эффектом обладали нагрузки, применяемые в вечерние часы, т. е. в период естественной активности грызунов. Эффекты в период низкой активности (утро) чаще всего были выше, но наибольшим эффектом обладали физические нагрузки, применяемые в переменном режиме (shift) – в течение недели утром и в течение недели вечером. Нужно отметить, что аналогичные закономерности мы описывали ранее и для эффектов физических нагрузок на массу тела и инсулинотолерантность [14].

В литературе мало работ, посвященных роли циркадных ритмов в эффектах физических нагрузок вообще, а относительно метаболических расстройств они вообще единичны. Поэтому сложившейся точки зрения о механизмах этого влияния пока нет. Ряд авторов связывают это с эффектом стресса, так как больший эффект присущ нагрузкам, выполняемым в непривычное время. Частично эта гипотеза соотносится с нашими данными по содержанию кортизола в сыворотке у мышей [20].

В то же время в работе [11] показано, что циркадную ритмичность в толерантности к инсулину наблюдали также в сигнальных путях, регулирующих инсулин- и индуцированное физической нагрузкой поглощение глюкозы в скелетных мышцах, включая АКТ, 5'-аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу (АМРК) и фосфорилирование семейства доменов TBC1 4. Базальное и стимулированное инсулином поглощение глюкозы скелетными мышцами и жировыми тканями *in vivo* также различалось в дневное и ночное время. Однако ритмичность поглощения глюкозы отличалась от ритма толерантности к инсулину в целом. Как чувствительность к инсулину, так и передача сигналов изолированных скелетных мышц достигли максимума в темный период. Эти результаты свидетельствуют, что механизмы циркадной ритмичности углеводного обмена не могут ограничиваться только фактором стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют сделать несколько важных выводов.

Снижение содержания гликогена в мышцах при СД2 в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Об этом свидетельствует тот факт, что содержание

гликогенсинтазы как в мышцах, так и в печени не изменялось при формировании метаболических расстройств у мышей, зато увеличивалось при физических нагрузках, причем в большей степени у здоровых животных.

Значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфорилазы в ткани печени и скелетных мышц, на эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. По всей вероятности, данный фермент вовлекается как в механизмы развития патологических процессов, так и в механизмы адаптивных эффектов двигательной активности.

Развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождается снижением содержания HDL в печени параллельно с возрастанием LDL и VLDL. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты. Таким образом, можно утверждать, что физическая активность способна частично нивелировать патологические эффекты жировой диеты даже без коррекции режима питания.

В группе возрастных мышей метаболические перестройки, вызванные как моделированием СД2, так и физическими нагрузками, носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. В целом просматривается вполне ожидаемая зависимость – в группе возрастных животных нарушения со стороны углеводного и липидного обмена были более выражены, а корригирующий эффект физических нагрузок в большинстве случаев был слабее. Однако мы зафиксировали целый ряд исключений, отличающих возрастных животных от молодых.

Эффекты физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечной ткани, значительно различаются. Практически во всех случаях наименьшим эффектом обладали нагрузки, применяемые в вечерние часы, т. е. в период естественной активности грызунов. Эффекты в период низкой активности (утро) чаще всего были выше, но наибольшим эффектом обладали физические нагрузки, применяемые в переменном режиме (shift) – в течение недели утром и в течение недели вечером.

Полученные результаты позволяют заключить, что физические нагрузки могут выступать средством профилактики не только непосредственно метаболических нарушений (ожирение и инсулинорезистентность), но и сопутствующих осложнений со стороны печени и в дальнейшем сердечно-сосудистой системы. За счет частичной нормализации параметров

углеводного, а также липидного обмена, физические нагрузки по все вероятности способны снизить риск как жировой патологии печени, так и сосудистых расстройств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Ouyang G., Wang N., Tong J., Sun W., Yang J., Wu G. Alleviation of taurine on liver injury of type 2 diabetic rats by improving antioxidant and anti-inflammatory capacity. *Heliyon*. 2024;10(7):E28400. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e28400.
- Кляритская И.Л., Максимова Е.В. Поражение печени у пациентов с сахарным диабетом. *Крымский терапевтический журнал*. 2010;2(2):8–13.
- Fujimaki S., Kuwabara T. Diabetes-induced dysfunction of mitochondria and stem cells in skeletal muscle and the nervous system. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(10):2147. DOI: 10.3390/ijms18102147.
- Højlund K. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. *Dan. Med. J.* 2014;61(7):B4890.
- Barrera F., Uribe J., Olvares N., Huerta P., Cabrera D., Romero-Gómez M. The Janus of a disease: Diabetes and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Ann. Hepatol.* 2024;9(4):101501. DOI: 10.1016/j.aohp.2024.101501.
- Каплевич Л.В., Захарова А.Н., Дьякова Е.Ю., Кироненко Т.А., Милованова К.Г., Калинин Ю.Г., Чибалин А.В. Экспериментальная модель сахарного диабета II типа у мышей на основе диеты с избыточным содержанием жиров. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(3):53–61. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-53-61.
- Nagy C., Einwallner E. Study of In vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). *J. Vis. Exp.* 2018;7(131):1–12. DOI: 10.3791/56672.
- Winzell M.S., Ahren B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(3):S215–S219. DOI: 10.2337/diabetes.53.suppl_3.s215.
- Brinkmann C., Schwinger R.H., Brixius K. Physical activity and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients: the role of nitric oxide and oxidative stress. *Wien. Med. Wochenschr.* 2011;161(11-12):305–314. DOI: 10.1007/s10354-011-0868-8.
- Karstoft K., Pedersen B.K. Exercise and type 2 diabetes: focus on metabolism and inflammation. *Immunol. Cell Biol.* 2016;94:146–150. DOI: 10.1038/icb.2015.101.
- Basse A.L., Dalbram E., Larsson L., Gerhart-Hines Z., Zierath J.R. Treebak J.T. Skeletal muscle insulin sensitivity show circadian rhythmicity which is independent of exercise training status. *Front. Physiol.* 2018;9:1198. DOI: 10.3389/fphys.2018.01198.
- Zakharova A.N., Kalinnikova Y., Negodenko E.S., Orlova A.A., Kapilevich L.V. Experimental simulation of cyclic training loads. *Teor. Prakt. Fizich. Kult.* 2020;10:26–27.
- Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A., Dyakova E.Y., Kalinnikova J.G., Kollantay O.V. et al. Effects of treadmill running at different light cycles in mice with metabolic disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:15132. DOI: 10.3390/ijms242015132.
- Мохорт Т.В. Дислипидемия и сахарный диабет: новые данные. *Медицинские новости*. 2021;9:9–55.
- He J., Kelley D.E. Muscle glycogen content in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004;287(5):1002–1007. DOI: 10.1152/ajpendo.00015.2004.
- Hansen J.S., Zhao X., Irmeler M., Liu X., Hoene M., Scheler M. et al. Type 2 diabetes alters metabolic and transcriptional signatures of glucose and amino acid metabolism during exercise and recovery. *Diabetologia*. 2015;58(8):1845–1854. DOI: 10.1007/s00125-015-3584-x.
- Varra F.N., Varras M., Varra V.K., Theodosios-Nobelos P. Molecular and pathophysiological relationship between obesity and chronic inflammation in the manifestation of metabolic dysfunctions and their inflammation-mediating treatment options (Review). *Mol. Med. Rep.* 2024;29(6):95. DOI: 10.3892/mmr.2024.13219.
- Meneilly G.S. Pathophysiology of diabetes in the elderly. In: Diabetes in old age. *John Wiley & Sons*. 2001;155–164. DOI: 10.1002/0470842326.ch2.
- Raue U., Trappe T.A., Estrem S.T., Qian H.-R., Helvering L.M., Smith R.C. et al. Transcriptomic signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults. *J. Appl. Physiol* 2012;112:1625–1636. DOI: 10.1152/jappphysiol.00435.2011.
- Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A., Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Kapilevich L.V. Influence of light stress on the metabolic effects of running loads in mice with a model of diabetes mellitus type II. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2023;19(3):152–159. URL: <https://scipub.org/143180562>

Вклад авторов

Милованова К.Г., Захарова А.Н. – существенный вклад в концепцию и дизайн работы, анализ и интерпретация данных исследования, написание текста статьи. Коллантай О.В., Орлова А.А., Шувалов И.Ю., Попов С.А. – существенный вклад в сбор, анализ данных для работы, обработка и интерпретация результатов. Ковалев И.В., Медведев М.А., Якимович И.Ю., Чибалин А.В. – существенный вклад в анализ данных, обработка и интерпретация результатов, редактирование текста. Каплевич Л.В. – научное руководство, концепция исследования, редактирование текста, окончательное утверждение версии для публикации.

Информация об авторах

Милованова Ксения Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, naffys@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3038-3298>

Захарова Анна Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины факультета физической культуры, НИ ТГУ, г. Томск, azakharova91@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1102-2830>

Орлова Анна Алексеевна – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, anna.orlova.96@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9886-9454>

Коллантай Олеся Вадимовна – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, olesya.tay@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-2445-0124>

Шувалов Игорь – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, oleg-100500-lol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1096-807X>

Попов Сергей Андреевич – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, sergeyup9@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-7820-4411>

Медведев Михаил Андреевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры нормальной физиологии, СибГМУ, г. Томск, nphys@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5443-0271>

Ковалев Игорь Викторович – д-р мед. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, kovalew@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9269-0170>

Якимович Инесса Юрьевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой гигиены, СибГМУ, г. Томск, yakimovich.ij@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7485-5920>

Чибалин Александр Валерьевич – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, alexander.chibalin@ki.se <https://orcid.org/0000-0002-6339-6271>

Капилевич Леонид Владимирович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины факультета физической культуры, НИ ТГУ; ст. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ; профессор отделения физической культуры, НИ ТПУ, г. Томск, kapil@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2316-576X>

(✉) Капилевич Леонид Владимирович, kapil@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.07.2024;
одобрена после рецензирования 08.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616-002.5:616.155.3]-053.2:612.017.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-95-104>

Характеристика продукции нейтрофильных внеклеточных ловушек и концентрации цитруллинированного гистона H3 у детей, больных туберкулезом

Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Индутный А.В., Мордык А.В., Кириченко Н.А., Романова М.А., Птухин А.О.

Омский государственный медицинский университет (ОмГМУ)
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: охарактеризовать показатели продукции нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в культуре лейкоцитов и концентрацию цитруллинированного гистона H3 (citH3) периферической крови для оценки возможных особенностей реализации нетоза у детей, больных туберкулезом.

Материалы и методы. В исследование вошли 20 детей с активным туберкулезом органов дыхания (группа «Туберкулез») и 20 клинически здоровых детей без признаков сенсibilизации к антигенам *Mycobacterium tuberculosis* (группа «Контроль»). Выясняли способность нейтрофилов к формированию НВЛ при воздействии *ex vivo* на них неспецифического антигенного стимулятора и исследовали концентрацию цитруллинированного гистона H3 в периферической крови.

Результаты. Нейтрофилы больных туберкулезом детей чаще, чем детей в группе «Контроль», формировали нитевидные НВЛ ($Me = 21,0$ и $Me = 16,0$ соответственно; $p = 0,0474$) и облаковидные НВЛ ($Me = 10,5$ и $Me = 4,0$ соответственно; $p = 0,0068$). В обеих группах преобладали нитевидные НВЛ. Однако облаковидные НВЛ были отмечены у всех представителей группы «Туберкулез» (100%), а в группе «Контроль» были выявлены только у 15 из 20 обследуемых ($\chi^2 = 16,01$; $p < 0,0068$). В группе «Туберкулез» медиана концентрации citH3 в крови была в 18,9 раза выше, чем в группе «Контроль» ($Me = 26,5$ и $Me = 1,4$ соответственно; $p = 0,0041$). Выявлена сильная положительная корреляционная взаимосвязь между концентрацией citH3 и генерацией нитевидных ($r = 0,86$; $p = 0,0137$), но не облаковидных форм НВЛ в группе «Туберкулез» и контрольной группе ($r = 0,95$; $p = 0,0008$).

Заключение. Высокий уровень citH3 в группе «Туберкулез» может отражать его нетоз-индуцированную продукцию и быть следствием возросшей активности данного процесса *in vivo*. Существенную роль в этом может играть ранее сформированная потенциальная готовность нейтрофилов к образованию НВЛ (пронетотический фенотип), что согласуется с нашим наблюдением о возрастании способности к формированию внеклеточных ловушек *ex vivo* изолированных нейтрофилов обследуемых лиц данной группы.

Ключевые слова: туберкулез у детей, нейтрофильные внеклеточные ловушки, цитруллинированный гистон H3, способность нейтрофилов к формированию внеклеточной ловушки

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 № 23-25-10043, <https://rscf.ru/project/23-25-10043/>

Соответствие принципам этики. Информированное согласие было получено от законных представителей участников исследования. Исследование одобрено этическим комитетом ОмГМУ (протокол № 5 от 28.04.2023).

✉ Кириченко Николай Александрович, honomer_1608@mail.ru

Для цитирования: Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Индутный А.В., Мордык А.В., Кириченко Н.А., Романова М.А., Птухин А.О. Характеристика продукции нейтрофильных внеклеточных ловушек и концентрации цитруллинированного гистона H3 у детей, больных туберкулезом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):95–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-95-104>.

NETs production and citrullinated histone H3 level in children with tuberculosis

Novikov D.G., Zolotov A.N., Indutny A.V., Mordyk A.V., Kirichenko N.A., Romanova M.A., Ptukhin A.O.

Omsk State Medical University
12, Lenina Str., Omsk, 644099, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To characterize parameters of neutrophil extracellular trap (NET) production in the leukocyte culture and citrullinated histone H3 (citH3) level in peripheral blood to assess the features of NETosis in children with tuberculosis.

Materials and methods. The study included 20 children with active pulmonary tuberculosis (TB group) and 20 clinically healthy children without signs of sensitization to *Mycobacterium tuberculosis* antigens (control group). The ability of neutrophils to form NETs under *ex vivo* exposure to a non-specific immune stimulant and the concentration of citH3 in peripheral blood were investigated.

Results. Neutrophils in children with tuberculosis formed filamentous NETs ($Me = 21.0$ and $Me = 16.0$, respectively; $p = 0.0474$) and cloud-like NETs ($Me = 10.5$ and $Me = 4.0$, respectively; $p = 0.0068$) more frequently than the controls. Filamentous NETs prevailed in both groups. However, cloud-like NETs were registered in all patients in the TB group (100%) and only in 15 of 20 children in the control group ($\chi^2 = 16.01$; $p < 0.0068$). The concentration of citH3 in the blood was 18.9 times higher in the TB group than in the control group ($Me = 26.5$ and $Me = 1.4$, respectively; $p = 0.0041$). A strong positive correlation was found between the citH3 concentration and the generation of filamentous ($r = 0.86$; $p = 0.0137$), but not cloud-like NETs ($r = 0.95$; $p = 0.0008$) in both groups.

Conclusion. The high level of citH3 in the TB group can reflect its NETosis-induced release and be caused by increased NETosis *in vivo*. This may be due to the previously formed potential of neutrophils to generate NETs (a proNETotic phenotype), which is consistent with our observation of an increased ability of isolated neutrophils to form extracellular traps *ex vivo* in children of the TB group.

Keywords: tuberculosis in children, neutrophil extracellular traps (NETs), citrullinated histone H3, neutrophils ability to form an extracellular trap

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

Source of financing. The research was funded by the Russian Science Foundation grant No. 23-25-10043, <https://rscf.ru/project/23-25-10043/>

Conformity with the principles of ethics. An informed consent was obtained from legal representatives of the study participants. The study was approved by the Ethics Committee at Omsk State Medical University (Protocol No. 5 of 28.04.2023).

For citation: Novikov D.G., Zolotov A.N., Indutny A.V., Mordyk A.V., Kirichenko N.A., Romanova M.A., Ptukhin A.O. NETs production and citrullinated histone H3 level in children with tuberculosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):95–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-95-104>.

ВВЕДЕНИЕ

Инфицирование *Micobacterium tuberculosis* сопровождается увеличением количества Th1- и Th2-лимфоцитов, что может способствовать развитию дисбаланса иммунных реакций у больных туберкулезом легких [1]. Изменение регуляции иммунного ответа сопряжено с формированием особого цитокинового профиля [2], который в свою очередь может обусловить экстренный гранулоцитопоз, что в конечном итоге реструктурирует функциональные возможности нейтрофилов [3].

Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), или нетоз, – механизм неспецифической защиты, обеспечиваемой нейтрофильными лейкоцитами в ответ на стимуляцию агентами как бактериального, так и небактериального происхождения, открыт в 2004 г. V. Brinkmann и A. Zychlinsky [4]. НВЛ представляют собой надмолекулярные структуры, состоящие из деконденсированных ДНК-гистоновых комплексов с фиксированными на их поверхности белками, высвободившимися из гранул нейтрофилов: нейтрофильной эластазой, миелопероксидазой и другими специализированными белками [5]. Такой состав НВЛ вносит свой вклад в бактерицидную функцию, что, несомненно, значительно при различных инфекционных заболеваниях, в том числе при туберкулезе. Нарушение процесса нетоза может оказывать существенное влияние на развитие целого ряда заболеваний и риски появления их осложнений [6].

Есть свидетельства того, что у пациентов с тяжелыми формами туберкулеза наблюдались выраженные проявления нетоза [7, 8]. Рутинным способом изучения нетоза является люминесцентная микроскопия [9]. В соответствующих методиках анализа применяются различные ДНК-интеркалирующие красители и флуоресцентно-меченные антитела к компонентам нейтрофильных лейкоцитов [9]. Было показано, что процесс образования НВЛ в ответ на антигенную стимуляцию сопровождался морфологически различающимися люминесцентно-микроскопическими феноменами, наблюдаемыми в препарате [10, 11]. При этом были выявлены как так называемые облаковидные, так и, соответственно, нитевидные формы НВЛ, что может отражать разную степень деконденсации хроматина, формирующего данные формы ловушек. В свою очередь, превалирование некоторой определенной формы (среди всех наблюдаемых в препарате) ловушек оказалось связанным с характером течения туберкулезной инфекции [12]. Известно, что процесс деконденсации хроматина при нетозе обеспечивается модификаци-

ей гистонов, нарушающей их нековалентное взаимодействие с ДНК.

Показано, что при нетозе наблюдается цитруллинизация гистонов, в том числе гистона H3 с модификацией аминокислотных остатков аргинина R2, R8, R17 [4, 13, 14]. В частности, в нейтрофилах, полученных от взрослых лиц, больных туберкулезом, обнаруживалась иммунофлуоресцентная метка к цитруллинированному гистону H3 (citH3) после стимулирования их *M. tuberculosis*, тогда как у здоровых лиц – нет [15]. У взрослых лиц его концентрация в крови была взаимосвязана со степенью тяжести течения туберкулеза, наличием полостей распада [8]. Отмечено, что citH3 может быть определен в сыворотке крови, в том числе и как маркер состоявшегося нетоза [4]. Вместе с тем остается открытым вопрос о том, насколько уровень циркулирующего в крови citH3 может быть взаимосвязанным с активностью процессов посттрансляционной энзиматической модификации гистонов в нейтрофильных лейкоцитах больных туберкулезом при нетозе. Учитывая тот факт, что нетоз у детей может сопровождаться избыточной активацией нейтрофилов и более выраженным образованием НВЛ в сравнении со взрослыми [16], задача по изучению участия нетоза при инфекционном процессе у детей, вызванным *M. tuberculosis*, является актуальной и медицински значимой. Литературных данных о концентрации citH3 в периферической крови во взаимосвязи с характеристикой способности нейтрофилов к формированию НВЛ у детей с туберкулезом легких в доступных информационных источниках не найдено.

Цель исследования: охарактеризовать показатели продукции нейтрофильных внеклеточных ловушек в культуре лейкоцитов и концентрацию цитруллинированного гистона H3 периферической крови для оценки возможных особенностей реализации нетоза у детей, больных туберкулезом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 20 детей с активным туберкулезом органов дыхания (группа «Туберкулез») и 20 клинически здоровых детей (группа «Контроль»). Группа «Туберкулез» включала 14 детей с диагнозом «первичный туберкулезный комплекс» (ПТК), трех детей с диагнозом «инфильтративный туберкулез легких» (ИТЛ) и трех детей с диагнозом «туберкулез внутригрудных лимфатических узлов с бронхо-легочным поражением», поступивших в 2022–2023 гг. на лечение в БУЗОО «Специализированная детская туберкулезная клиническая больница» (г. Омск). Критерии включения в группу «Туберкулез»: возраст от 4 до 14 лет; наличие впер-

вые выявленного активного туберкулеза органов дыхания, установленного центральной контрольной комиссией противотуберкулезного учреждения; назначение химиотерапии по поводу впервые выявленного туберкулеза; информированное согласие родителей (или законных представителей) ребенка на включение в исследование. Критерии исключения: наличие сопутствующих заболеваний, выявление изолированного внелегочного туберкулеза.

В контрольную группу вошли здоровые дети, наблюдавшиеся в детском отделении БУЗОО «Городская поликлиника № 10» (г. Омск), у которых по результатам ежегодного обследования отмечена отрицательная реакция на туберкулин. Обследуемые были подобраны по методу «копия – пара» по полу и возрасту к детям из группы «Туберкулез». Критерии включения: отрицательная реакция в пробе Манту с 2 ТЕ; отсутствие контакта с больными туберкулезом; информированное согласие родителей (законных представителей) ребенка на включение в исследование. Критерии исключения: наличие иммунопатологических заболеваний, острые респираторные

заболевания, перенесенные в течение 1 мес перед исследованием.

В группах «Контроль» и «Туберкулез» оценивали способность изолированной фракции нейтрофилов к формированию НВЛ по методике, описанной в патенте на изобретение [17]. После выделения культуры нейтрофилов на градиенте фиколла-верографина оценивали нетоз-формирующую способность нейтрофилов. Поскольку для нейтрофилов нехарактерна специфическая чувствительность к антигенам, мы применяли прием, провоцирующий нейтрофилы к формированию НВЛ: нейтрофилы инкубировали в течение 30 мин при 37 °С в среде, содержащей неспецифический антигенный стимулятор (смесь *Lactobacillus (L.) reuteri*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*). По завершении инкубации при люминесцентной микроскопии подсчитывали количество люминесцентно-позитивных объектов в препарате: нейтрофилов (интактных, активированных и гиперактивированных), клеток раннего нетоза, НВЛ с дифференциацией облаковидных и нитевидных вариантов формы (рис. 1).

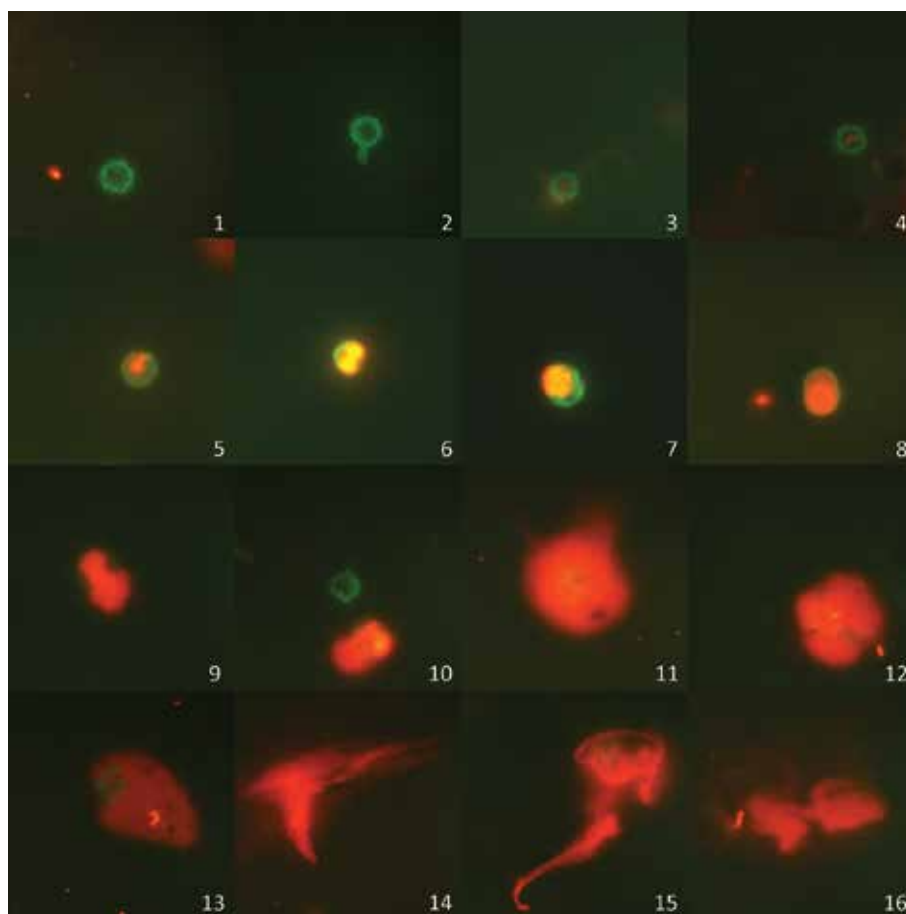


Рис. 1. Микрофотографии объектов, обнаруженных в препарате изолированной фракции нейтрофилов: 1, 2 – интактные нейтрофилы; 3, 4 – гипоактивированные нейтрофилы; 5, 6 – активированные нейтрофилы; 7, 8 – гиперактивированные нейтрофилы; 9 – клетки раннего нетоза; 10 – интактный нейтрофил (вверху), клетка раннего нетоза (внизу); 11 – облаковидная нейтрофильная внеклеточная ловушка; 12, 13 – облаковидные нейтрофильные внеклеточные ловушки с захваченной бактерией; 14, 15 – нитевидные нейтрофильные внеклеточные ловушки; 16 – нитевидная нейтрофильная внеклеточная ловушка с захваченной бактерией; люминесцентная микроскопия, $\times 1000$

Полученные значения выражали в процентах от общего количества люминесцентно-позитивных объектов (ЛПО) в препарате. Кроме того, рассчитывали коэффициент захвата НВЛ – отношение захваченных ловушкой объектов к общему количеству НВЛ. Отрицательный контроль при исследовании способности нейтрофила к формированию НВЛ проводили путем инкубации культуры нейтрофилов с 0,9%-м NaCl в объеме, равном объему неспецифического антигенного стимулятора, использованному в основной серии исследования. Концентрацию citH3 определяли в образцах сыворотки периферической крови в соответствии с инструкцией производителя тест-системы Citrullinated Histone H3 (Clone 11D3) ELISA Kit (Cayman Chemical Company, США).

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием программы Statistica 8.0. Характер распределения данных в исследуемых группах оценивали с помощью *W*-теста Шапиро – Уилка. Поскольку полученные данные имели отличное от нормального распределение, результа-

ты представлены с указанием медианы и межквартильного размаха ($Me (Q_1; Q_3)$). Для расчета статистической значимости различий для независимых выборок использовался *U*-критерий Манна – Уитни. Сопряженность варьирования значений показателей *ex vivo* способности нейтрофилов к формированию НВЛ и концентрации citH3 периферической крови оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции *r*-Спирмена. С использованием критерия χ^2 Пирсона проведено сравнение форм распределения отдельных люминесцентно-микроскопических признаков в пределах исследуемых групп. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нейтрофилы, выделенные из периферической крови детей из группы «Туберкулез», чаще формировали НВЛ при инкубации в присутствии антигенного стимулятора (в сравнении с группой «Контроль»). Количество НВЛ от всех ЛПО (100%) в группе «Туберкулез» составило 31,5% (26,4; 39,6), а в группе «Контроль» – 21,1% (19,3; 23,8), $p = 0,0087$ (рис. 2).

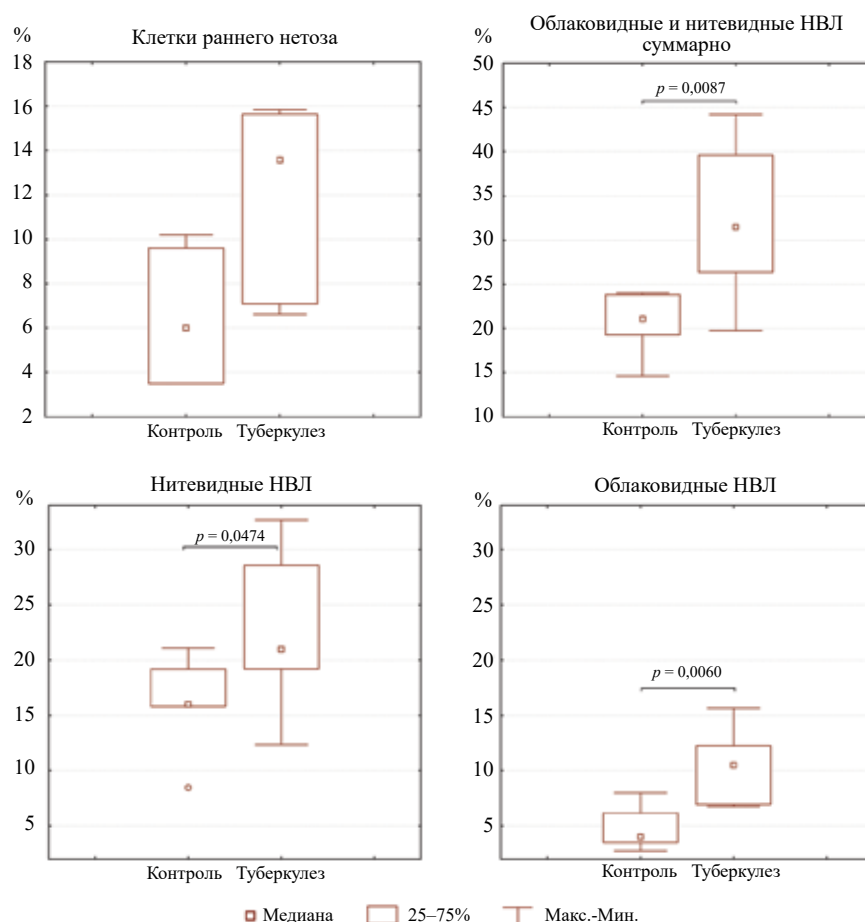


Рис. 2. Люминесцентно-позитивные объекты в препарате изолированных нейтрофилов после воздействия стимулятора: клетки раннего нетоза, нейтрофильные внеклеточные ловушки (за 100% приняты все люминесцентно-позитивные объекты)

Нейтрофилы детей группы «Туберкулез» формировали преимущественно нитевидные НВЛ: 21,0% (19,2; 28,6), в сравнении с группой «Контроль» – 16,0% (15,8; 19,2), $p = 0,0474$ (рис. 3). Облаковидные НВЛ у детей контрольной группы в препаратах нейтрофилов обнаруживались реже, чем у детей в группе «Туберкулез»: 4,0% (3,5; 6,2) и 10,5% (6,9; 12,3) соответственно, $p = 0,0060$.

Однако в препаратах нейтрофилов у пяти детей группы «Контроль» они не были обнаружены, тогда как в группе «Туберкулез» облаковидные НВЛ были выявлены у всех обследуемых ($\chi^2 = 16,01$; $p < 0,0068$). Коэффициент захвата НВЛ (рис. 4) у детей контрольной группы имел сопоставимые с группой «Туберкулез» значения ($p > 0,05$). В отрицательном контроле НВЛ отсутствовали.

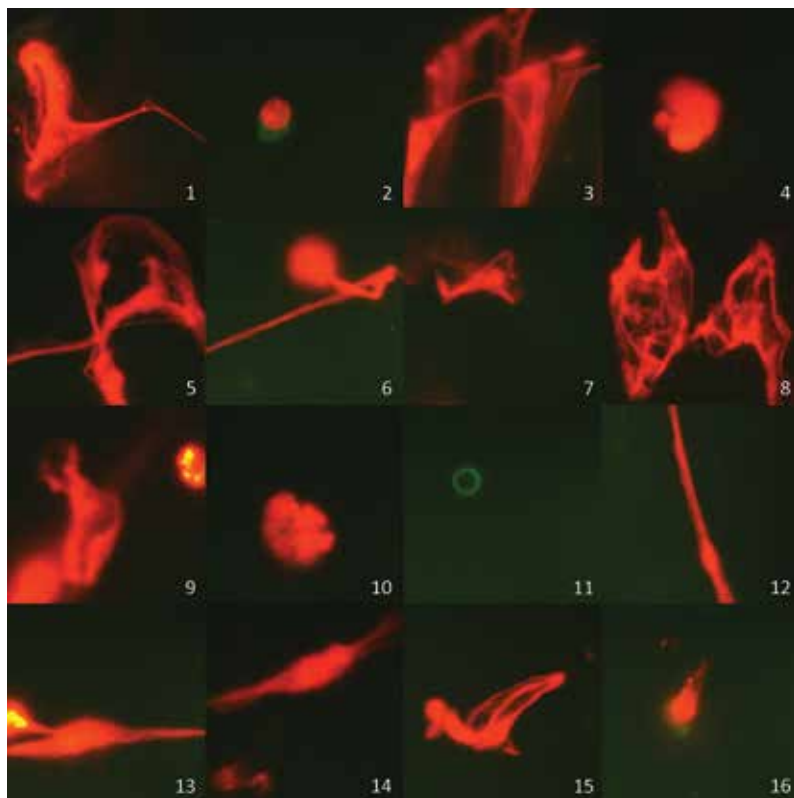


Рис. 3. Примеры полей зрения в препарате изолированных нейтрофилов у детей, больных туберкулезом, после воздействия неспецифического антигенного стимулятора: нитевидные нейтрофильные внеклеточные ловушки (1, 3, 5–9, 12–15), облаковидные нейтрофильные внеклеточные ловушки (4, 10), клетка раннего не-тоза (16), гиперактивированный нейтрофил (2), интактный нейтрофил (11); люминесцентная микроскопия, $\times 1\,000$

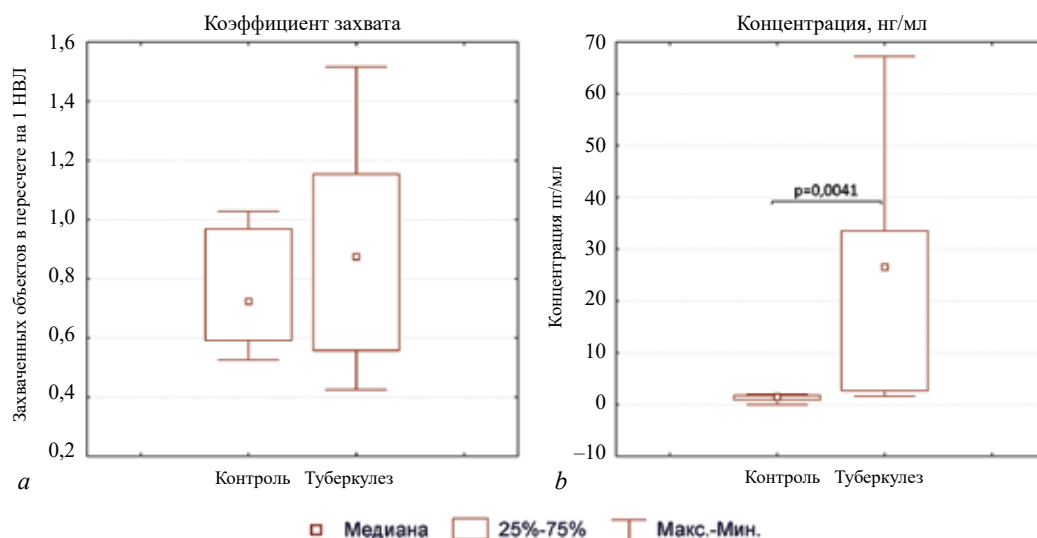


Рис. 4. Коэффициент захвата нейтрофильных внеклеточных ловушек (а); концентрация цитруллинированного гистона НЗ в периферической крови (б)

В сравнении с контрольной группой в крови детей, больных туберкулезом, медиана концентрации citH3 (см. рис. 4) была в 18,9 раза выше ($p = 0,0041$, U -критерий Манна – Уитни). В группе «Контроль» ее значения составили 1,4 (0,9; 1,8) нг/мл, а в группе «Туберкулез» – 26,5 (2,7; 33,6) нг/мл.

После инкубации нейтрофилов в присутствии неспецифического антигенного стимулятора в препаратах было отмечено закономерное снижение количество интактных нейтрофилов, являющееся вероятным следствием их активации с формированием ими НВЛ. Количество интактных нейтрофилов от общего количества ЛПО в препаратах в группе детей, больных туберкулезом, составило 34,6% (26,7; 40,7), тогда как в контрольной группе это значение было существенно выше: 54,0% (46,3; 61,4), $p = 0,0040$ (U -критерий Манна – Уитни). Также в группе «Туберкулез» была несколько ниже доля гипоактивированных нейтрофилов 2,6% (1,2; 4,9) в сравнении с группой «Контроль» 6,0% (4,8; 6,9); $p = 0,0295$. Между исследуемыми группами не выявлено статистически значимых различий по показателям распределения численности активированных и гиперактивированных нейтрофилов ($p > 0,05$).

Исследование корреляционных связей в группе «Контроль» показало наличие двух сильных корреляций между концентрацией citH3 в крови и долей нитевидных НВЛ ($r = 0,95$; $p = 0,0008$), между citH3 в крови и долей клеток раннего нетоза ($r = 0,77$; $p = 0,0408$). Исследование корреляционных связей в группе «Туберкулез» показало наличие трех сильных взаимосвязей между концентрацией citH3 в крови и долей (в %) нитевидных НВЛ ($r = 0,86$; $p = 0,0137$), между citH3 в крови и долей всех НВЛ ($r = 0,89$; $p = 0,0068$). Корреляционная взаимосвязь между citH3 в крови и долей гиперактивированных форм нейтрофилов была отрицательной ($r = -0,89$; $p = 0,0068$). Других статистически значимых корреляционных связей между концентрацией citH3 в периферической крови и долей отдельных ЛПО не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разнообразие методических подходов и отсутствие лабораторного золотого стандарта в изучении НВЛ приводит к неоднозначности трактовок получаемых научных результатов. По многим вопросам, касающимся морфологии НВЛ, механизмов, источников их образования, а также регуляции этого процесса, ведущим исследователям в этой области до сих пор не удалось достичь консенсуса [18]. В большинстве публикаций на микрофотографиях, полученных с применением флуоресцентных красителей

для визуализации НВЛ или ее компонентов, ловушки были представлены нитевидными структурами [19]. Однако ряд авторов указывает на то, что НВЛ могут принимать и облаковидную форму [11, 18].

В отличие от большинства исследователей, Shida Yousefi и соавт. предполагают, что факт появления облаковидных структур, состоящих преимущественно из внеклеточной ДНК, после воздействия на нейтрофилы теми или иными агентами не является результатом нетоза, а обусловлен иными формами клеточной смерти, сопряженными с цитолизом. Таким образом, авторы не относят облаковидные структуры к «истинным НВЛ», тогда как в качестве НВЛ обосновывают рассмотрение нитевидных структур, источником которых является митохондриальная ДНК [20, 21]. Указанные авторы считают образование нитевидных структур нормальным врожденным иммунным ответом, тогда как появление облаковидных структур предполагают сопряженным с формированием так называемого порочного круга воспаления и, как его следствие, с формированием аутоиммунного процесса [20, 21]. Вне зависимости от путей и механизмов образования надмолекулярных облаковидных структур, включающих в состав нуклеопротеины, мнение, высказанное Shida Yousefi и соавт., согласуется с полученными нами результатами.

В нашем исследовании именно у больных туберкулезом обнаруживалось существенно большее количество облаковидных НВЛ в сравнении с группой контроля, в которой такие НВЛ были единичными. Нитевидные же ловушки были в достаточно большом количестве представлены и у здоровых детей. Возможно, именно присутствие облаковидных НВЛ взаимосвязано с развитием компонентов аутоиммунной реакции, наблюдающейся при туберкулезе. Так, у больных туберкулезом в ряде исследований были обнаружены аутоантитела к различным аутоантигенам [22].

Одна из причин такого ответа – циркуляция в крови молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями (damage/danger-associated molecular patterns – DAMP) [22]. DAMP – достаточно гетерогенная группа молекул, к которой, в частности, относятся и гистоны [23], обладающие также и прямой цитотоксичностью [24]. Ранее при обследовании взрослых больных туберкулезом обнаружено, что более высокая концентрация citH3 , процесс образования которого тесно связывают с нетозом [4, 13, 14], сопряжена с увеличением содержания нейтрофилов в крови, наличием полостей распада в легких и низкой эффективностью противотуберкулезной терапии [8]. Это согласуется с нашими результатами, показавшими значимо большее содержание citH3 в сыворотке крови у детей, больных туберкулезом,

в сравнении со здоровыми детьми. Уровень citH3 у детей, больных туберкулезом, в нашем прежнем исследовании был значительно выше, чем у взрослых с полостью распада (что было выявлено идентичными тест-системами, использовавшимися в обоих исследованиях) [8]. Вероятно, на начальных этапах туберкулезной инфекции нетоз может играть более существенную роль в развитии аутовоспаления.

Кроме того, в настоящем исследовании уровень citH3 в сыворотке крови был взаимосвязан с образованием нитевидных, но не облаковидных НВЛ лейкоцитами периферической крови. При этом, вероятно, источником citH3 в сыворотке крови являются НВЛ, сформировавшиеся в очаге воспаления. А оцениваемая нами способность нейтрофилов периферической крови к образованию НВЛ описывает пронетотический фенотип нейтрофильных лейкоцитов, которые с большей вероятностью образуют НВЛ в условиях хронического воспаления [20]. Наличие указанной выше взаимосвязи, вероятно, можно объяснить, сравнив полученные нами результаты с исследованием Florence Guillotin и соавт. [19].

Данный авторский коллектив позиционирует наличие структур нитевидной формы, содержащих ДНК и распознаваемых антителами к миелопероксидазе и citH3, как морфологический эквивалент витального нетоза, наблюдаемый при люминесцентной микроскопии [19]. Такой подход является несколько противоречивым – он построен на совокупности гипотез, а также не согласуется с мнением Shida Yousefi и соавт., предполагающих, что источник нитевидных структур – ДНК митохондрий [20, 21]. Однако при этом следует учитывать, что митохондриальная ДНК не содержит гистонов [25]. Эквивалентами прочих видов нетоза, названных в статье «невитальным нетозом», являются нитевидные структуры, не содержащие citH3 [19]. Тогда как учет облаковидных структур в дизайне данного исследования не был предусмотрен. Вероятно, одновременно с витальным наблюдался суицидальный и иные разновидности нетоза. При этом невитальный нетоз в указанном исследовании преобладал в группе с патологией (преэклампсией) в сравнении с группой контроля, а нетоз, сочетавшийся с модификацией гистонов, – в обеих группах [19].

В связи с этим остается открытым вопрос, являются ли наблюдаемые нами облаковидные ДНК-содержащие структуры разновидностью суицидального нетоза или иным видом клеточной гибели. Но есть вероятность того, что они отражают процесс, не требующий регуляции деконденсации хроматина, опосредованной энзиматической модификацией гистонов. Появление данного феномена может отражать и

развитие аутоиммунного компонента воспаления. В то же время повышение концентрации citH3 у детей, больных туберкулезом, может отражать эффективность врожденного иммунного ответа и являться нормальным компенсаторно-приспособительным процессом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В сравнении со здоровыми детьми в крови детей, больных туберкулезом, наблюдалось большее содержание citH3. В исследовании *ex vivo* после воздействия неспецифического антигенного стимулятора на культуру нейтрофилов периферической крови детей, больных туберкулезом, относительное количество НВЛ нитевидной и облаковидной формы было более высоким, чем в аналогичном эксперименте с нейтрофилами здоровых детей. Установлено, что и у здоровых, и у больных туберкулезом детей количество сформированных *ex vivo* нитевидных форм НВЛ было прямо пропорционально уровню citH3 крови. Вместе с тем подобного сопряжения между количеством облаковидных форм НВЛ и уровнем citH3 крови не обнаружено. Вероятно, что более высокий уровень продукта энзиматической модификации – citH3 в крови детей, больных туберкулезом – отражает более высокую активность нетоза *in vivo*, которая, в свою очередь, может быть следствием роста потенциальных возможностей нейтрофилов к образованию НВЛ.

Воздействие многочисленных факторов иммунного ответа при туберкулезной инфекции, вероятно, определяет такое формирование своеобразного пронетотического фенотипа нейтрофила. Учитывая низкую иммунологическую специфичность нейтрофилов, можно предположить, что в данной ситуации повышенной готовности к нетозу круг антигенных структур, способных выступать в качестве триггеров и стимуляторов нетоза, может существенно расширяться. В частности, стимуляторами нетоза в таких условиях могут выступать и антигены нормальной микробиоты человека, включая антигены бактериальных кишечных симбионтов, на что, вероятно, и указывают результаты нашего исследования.

Полученные данные свидетельствуют о том, что методические подходы к изучению нетоза *in vivo* и *ex vivo*, реализованные нами, имеют неравнозначную информативность и способны взаимодополнять друг друга, поскольку характеризуют разные стороны изучаемых явлений нетоза. У детей, больных туберкулезом, существенно более распространенным оказалось образование облаковидных форм НВЛ в культуре нейтрофилов периферической крови в ответ на оказываемое индуцирующее воздей-

ствие. Данный вариант формы НВЛ исследователи характеризуют как аномальные [21]. Такая неэффективность реакции нетоза при длительном течении заболевания может иметь существенное значение в аспекте формирования предрасположенности к аутовоспалению и иммунопатологии. Изучение этих вопросов может стать предметом отдельного направления исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. 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. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-4-92-99.
2. Rook G.A. Th2 cytokines in susceptibility to tuberculosis. *Curr. Mol. Med.* 2007;7(3):327–337. DOI: 10.2174/156652407780598557.
3. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat. Rev. Immunol.* 2014;14(5):302–314. DOI: 10.1038/nri3660.
4. Tilley D.O., Abuabed U., Zimny Arndt U., Schmid M., Florian S., Jungblut P.R. et al. Histone H3 clipping is a novel signature of human neutrophil extracellular traps. *Elife*. 2022;11:e68283. DOI: 10.7554/eLife.68283.
5. Kasprzycka W., Homa-Mlak I., Mlak R., Malecka-Massalska T. Direct and indirect methods of evaluating the NETosis process. *J. Pre. Clin. Res.* 2019;13(1):50–56. DOI: 10.26444/jpcr/105563.
6. Huang J., Hong W., Wan M., Zheng L. Molecular mechanisms and therapeutic target of NETosis in diseases. *Med. Comm.* (2020). 2022;3(3):e162. DOI: 10.1002/mco2.162.
7. Schechter M.C., Buac K., Adekambi T., Cagle S., Celli J., Ray S.M. et al. Neutrophil extracellular trap (NET) levels in human plasma are associated with active TB. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182587. DOI: 10.1371/journal.pone.0182587.
8. De Melo M.G.M., Mesquita E.D.D., Oliveira M.M., da Silva-Monteiro C., Silveira A.K.A., Malaquias T.S. et al. Imbalance of net and alpha-1-antitrypsin in tuberculosis patients is related with hyper inflammation and severe lung tissue Damage. *Front. Immunol.* 2019;9:3147. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03147.
9. De Buhr N., von Köckritz-Blickwede M. How neutrophil extracellular traps become visible. *J. Immunol. Res.* 2016;2016:4604713. DOI: 10.1155/2016/4604713.
10. Мордык А.В., Золотов А.Н., Новиков Д.Г., Романова М.А., Кириченко Н.А., Птухин А.О. Нетозобразующая способность нейтрофилов у детей с латентной туберкулезной инфекцией при положительной пробе с аллергеном туберкулезным рекомбинантным. *Вопросы практической педиатрии*. 2023;18(5):7–12. DOI: 10.20953/1817-7646-2023-5-7-12.
11. Daniel C., Leppkes M., Muñoz L.E., Schley G., Schett G., Herrmann M. Extracellular DNA traps in inflammation, injury and healing. *Nat. Rev. Nephrol.* 2019;15(9):559–575. DOI: 10.1038/s41581-019-0163-2.
12. Мордык А.В., Золотов А.Н., Новиков Д.Г., Кириченко Н.А., Пахтусова П.О., Птухин А.О. Нетозформирующая способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом. *Туберкулез и болезни легких*. 2023;101(3):78–86. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-3-78-86.
13. Wang Y., Li M., Stadler S., Correll S., Li P., Wang D. et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J. Cell Biol.* 2009;184(2):205–213. DOI: 10.1083/jcb.200806072.
14. Cuthbert G.L., Daujat S., Snowden A.W., Erdjument-Bromage H., Hagiwara T., Yamada M. et al. Histone deimination antagonizes arginine methylation. *Cell*. 2004;118(5):545–553. DOI: 10.1016/j.cell.2004.08.020.
15. Ong C.W., Elkington P.T., Brilha S., Ugarte-Gil C., Tome-Esteban M.T., Tezera L.B. et al. Neutrophil-derived MMP-8 drives AMPK-dependent matrix destruction in human pulmonary tuberculosis. *PLoS Pathog.* 2015;11(5):e1004917. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004917.
16. Appelgren D., Enocsson H., Skogman B.H., Nordberg M., Perander L., Nyman D. et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in the cerebrospinal fluid samples from children and adults with central nervous system infections. *Cells*. 2019;9(1):43. DOI: 10.3390/cells9010043.
17. Новиков Д.Г., Золотов А.Н., Кириченко Н.А., Мордык А.В. Способ обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек в суправитально окрашенном препарате крови. Патент на изобретение № 2768152. Опубл. 23.03.2022. Бюл. № 9.
18. Boeltz S., Amini P., Anders H.J., Andrade F., Bilyy R., Chatfield S. et al. To NET or not to NET: current opinions and state of the science regarding the formation of neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ.* 2019;26(3):395–408. DOI: 10.1038/s41418-018-0261-x.
19. Guillotin F., Fortier M., Portes M., Demattei C., Mousty E., Nouvellon E. et al. Vital NETosis vs. suicidal NETosis during normal pregnancy and preeclampsia. *Front. Cell Dev. Biol.* 2023;10:1099038. DOI: 10.3389/fcell.2022.1099038.
20. Yousefi S., Simon D., Stojkov D., Karsonova A., Karaulov A., Simon H.U. In vivo evidence for extracellular DNA trap formation. *Cell Death Dis.* 2020;11(4):300. DOI: 10.1038/s41419-020-2497-x.
21. Yousefi S., Simon H.U. NETosis – does it really represent nature's “suicide bomber”? *Front. Immunol.* 2016;7:328. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00328.
22. Belyaeva I.V., Kosova A.N., Vasiliev A.G. Tuberculosis and autoimmunity. *Pathophysiology*. 2022;29(2):298–318. DOI: 10.3390/pathophysiology29020022.
23. Roh J.S., Sohn D.H. Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. *Immun. Netw.* 2018;18(4):e27. DOI: 10.4110/in.2018.18.e27.
24. Locke M., Francis R.J., Tsaousi E., Longstaff C. Fibrinogen protects neutrophils from the cytotoxic effects of histones and delays neutrophil extracellular trap formation induced by ionomycin. *Sci. Rep.* 2020;10(1):11694. DOI: 10.1038/s41598-020-68584-0.
25. Alexeyev M., Shokolenko I., Wilson G., LeDoux S. The maintenance of mitochondrial DNA integrity—critical analysis and update. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013;5(5):a012641. DOI: 10.1101/cshperspect.a012641.

Вклад авторов

Новиков Д.Г., Золотов А.Н. – разработка концепции и дизайна. Птухин А.О., Романова М.А. – подбор клинической базы для анализа, клиническое обследование пациентов. Романова М.А. – трактовка результатов МСКТ. Золотов А.Н. – люминесцентная микроскопия. Кириченко Н.А. – обеспечение преаналитического этапа исследования, люминесцентная микроскопия. Новиков Д.Г. – ИФА-исследование сыворотки крови. Новиков Д.Г., Золотов А.Н. – анализ и интерпретация данных. Индутный А.В. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Мордык А.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Новиков Дмитрий Георгиевич – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики дополнительного профессионального образования (ДПО), зав. центральной научно-исследовательской лабораторией (ЦНИЛ), ОмГМУ, г. Омск, novikov.dm.omsk@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-4339-2222>

Золотов Александр Николаевич – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник ЦНИЛ, доцент кафедры патофизиологии, ОмГМУ, г. Омск, azolotov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6775-323X>

Индутный Антон Васильевич – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ДПО, ОмГМУ, г. Омск, kld-omsk@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1951-5824>

Мордык Анна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней, ОмГМУ, г. Омск, amordik@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6196-7256>

Кириченко Николай Александрович – мл. науч. сотрудник, ЦНИЛ, ОмГМУ, г. Омск, honomer_1608@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8411-0973>

Романова Мария Алексеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней, ОмГМУ, г. Омск, rmari1@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1775-607X>

Птухин Александр Олегович – аспирант, кафедра фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней, ОмГМУ, г. Омск, ptuhin.alexandr@mail.ru, <http://orcid.org/000-0002-2830-161X>

(✉) **Кириченко Николай Александрович**, honomer_1608@mail.ru

Поступила в редакцию 12.03.2024;
одобрена после рецензирования 20.03.2024;
принята к публикации 14.05.2024

УДК 616.12-005.4:616.8-008.64]-02:616.8-009.836
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-105-110>

Нарушения сна у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессивными расстройствами

Нонка Т.Г.¹, Лебедева Е.В.¹, Репин А.Н.¹, Счастный Е.Д.²

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Киевская, 111а

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 наличие и выраженность инсомнии у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с депрессивными расстройствами (ДР).

Материалы и методы. В исследование включены 132 больных с ИБС (со стенокардией напряжения II–III функциональных классов после перенесенного инфаркта миокарда давностью более 6 мес): 58 пациентов с ДР и 74 пациента без ДР. Для диагностики ДР использовалась шкала депрессии Бека (BDI). Диагноз во всех случаях подтверждался при консультации психиатра-психотерапевта. Нарушения сна оценивались при анализе шкалы Шихана (ShARS). Данные представлены в виде $M \pm SD$; n (%); Me [25%; 75%], значимым считалось различие при $p < 0,05$.

Результаты. Нарушение засыпания в общей группе пациентов: нет или клинически не значимы – у 62 пациентов (54,9%), клинически значимые – у 51 пациента (45,1%). Ночные пробуждения в общей группе пациентов: у 66 (58,4%) – нет или клинически незначимые ночные пробуждения, клинически значимые – у 47 (41,6%). Нарушения засыпания и ночные пробуждения были значимо выражены у пациентов ИБС с выявленными ДР в сравнении с больными без расстройств психики: нарушения засыпания 2 [1; 3] vs 1 [0; 2] ($p = 0,0001$), ночные пробуждения 2 [1; 3] vs 1 [0; 2] ($p = 0,00002$) соответственно. В группе ИБС с ДР ($n = 58$) два человека (3,4%) не заполнили шкалу. Среди заполнивших 12 пациентов (21,4%) не имели проблем с засыпанием, 9 (16,1%) – немного, 35 (62,5%) – клинически выраженные нарушения. В группе ИБС без ДР ($n = 74$) 17 человек (23%) не заполнили шкалу. Среди заполнивших ($n = 57$) 21 пациент (36,8%) не имел проблем с засыпанием, 20 (35,1%) имели небольшие нарушения, 16 пациентов (28,1%) имели клинически выраженные нарушения. У больных ИБС в сочетании с ДР и заполнивших ShARS ($n = 56$) 7 (12,5%) не пробуждались ночью, 17 (30,4%) – немного пробуждались, у 32 (57,1%) наблюдались клинически выраженные нарушения поддержания сна. В группе без ДР среди заполнивших шкалу Шихана ($n = 57$) 18 (31,6%) не пробуждались ночью, 24 (42,1%) – немного пробуждались, у 15 (26,4%) отмечались клинически выраженные нарушения поддержания сна. По всем пунктам тестирования отмечены достоверные различия ($p < 0,0005$).

Заключение. У пациентов с хронической коронарной болезнью на фоне ДР выявляются изменения в суточном ритме в виде значительных нарушений засыпания и пробуждений, что может усугубить клиническое течение ИБС и прогноз больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, депрессивные расстройства, инфаркт миокарда, нарушения сна

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

✉ Нонка Татьяна Геннадьевна, tatiananonka@gmail.com

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

Соответствие принципам этики. Информированное согласие было подписано всеми участниками исследования. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Для цитирования: Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н., Счастный Е.Д. Нарушения сна у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессивными расстройствами. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):105–110. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-105-110>.

Sleep disturbances in patients with comorbid coronary heart disease and depression

Nonka T.G.¹, Lebedeva E.V.¹, Repin A.N.¹, Schastnyy E.D.²

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

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

ABSTRACT

Aim. To study the presence and severity of insomnia in patients with comorbid coronary heart disease (CHD) and depressive disorder (DD).

Materials and methods. The study included 132 patients with CHD (class II–III exertional angina after myocardial infarction experienced more than 6 months ago): 58 patients with DD and 74 patients without depression. The Beck Depression Inventory (BDI) was used to diagnose DD. The diagnosis in all cases was confirmed by a therapist. Sleep disturbances were assessed using the Sheehan Patient-Rated Anxiety Scale (ShAS). The data were presented as $M \pm SD$; n (%); and Me [25%; 75%]. The differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. Insomnia in the general group of patients was registered as follows: none or clinically not significant – in 62 patients (54.9%), clinically significant – in 51 patients (45.1%). Night awakenings in the general group of patients were detected as follows: none or clinically not significant – in 66 patients (58.4%), clinically significant – in 47 patients (41.6%). Disturbances in falling asleep and night awakenings were significantly pronounced in patients with CHD with identified DD compared to patients without mental disorders: disturbances in falling asleep – 2 [1; 3] vs. 1 [0; 2] ($p = 0.0001$), night awakenings – 2 [1; 3] vs. 1 [0; 2] ($p = 0.00002$), respectively. In the group of CHD with DD ($n = 58$), 2 people (3.4%) did not complete the scale. Among those who did, 12 patients (21.4%) had no difficulty falling asleep, 9 patients (16.1%) had little difficulty, and 35 patients (62.5%) had clinically significant disturbances. In the group of CHD without DD ($n = 74$), 17 people (23%) did not complete the scale. Among those who did ($n = 57$), 21 patients (36.8%) had no difficulty falling asleep, 20 patients (35.1%) had little difficulty, and 16 patients (28.1%) had clinically significant problems. In patients with comorbid CHD and DD who completed the ShARS ($n = 56$), 7 patients (12.5%) had no night awakenings, 17 patients (30.4%) had few night awakenings, and 32 patients (57.1%) had clinically significant disturbances in maintaining sleep. In the group without DD, among those who completed the ShARS ($n = 57$), 18 patients (31.6%) had no night awakenings, 24 patients (42.1%) had few night awakenings, and 15 patients (26.4%) had clinically significant disturbances in maintaining sleep. Significant differences were noted for all test questions ($p < 0.0005$).

Conclusion. In patients with comorbid CHD and DD, changes in the circadian rhythm are detected in the form of significant disturbances in falling asleep and awakening, which can aggravate the clinical course of CHD and the prognosis of patients with cardiovascular diseases.

Keywords: coronary heart disease, depressive disorders, myocardial infarction, sleep disturbances

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Cardiology Research Institute of Tomsk NRMС.

For citation: Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N., Schastnyy E.D. Sleep disturbances in patients with comorbid coronary heart disease and depression. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):105–110. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-105-110>.

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом в мире все больше нарастает психоэмоциональный стресс, особенно среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, о чем свидетельствуют крупные эпидемиологические исследования [1, 2]. Почти 70% больных с артериальной гипертензией, ишемической болезнью сердца (ИБС) имеют высокий уровень стресса. Следовательно, нарастает и частота аффективных расстройств у больных с сердечно-сосудистой патологией. В исследовании КОМЕТА на приеме у врача амбулаторной практики тревожная симптоматика имела в 47,2% случаях, в 25,5% она носила клинически значимый характер; симптомы депрессии встречались у 42,5% пациентов, в 16,3% они были клинически значимы [1]. Важно учитывать, что депрессивная симптоматика ранее у пациентов не была выявлена. Соответственно, депрессивные расстройства (ДР) часто вовремя не диагностируются и могут приводить к ухудшению течения сердечно-сосудистых заболеваний и влиять на прогноз [3, 4].

Всемирная организация здравоохранения предполагает, что в 2030 г. среди ведущих причин нетрудоспособности и инвалидизации будут лидировать ИБС и ДР [5, 6]. Депрессия является мощнейшим фактором риска ИБС и предиктором смертности у данной категории больных: ДР страдают 40% больных в постинфарктный период, повышая риск смерти в 3–6 раз [7]. Известно, что сердечно-сосудистые катастрофы, в частности инфаркты миокарда, чаще возникают в ночные и ранние утренние часы [8] и связаны с активацией симпатико-адреналовой системы. Большую роль в балансе парасимпатической и симпатической нервной системы играет здоровый сон, и нарушения сна (инсомнии) препятствуют физиологическому ночному снижению симпатической активности, что, в свою очередь, влияет на многие патогенетические механизмы сердечно-сосудистой патологии. В то же время известно, что одним из наиболее частых проявлений ДР являются именно

нарушения сна, достигая частоты встречаемости до 80% [9]. Таким образом, не вызывает сомнения актуальность изучения нарушений сна у пациентов с коморбидной патологией – ИБС и ДР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

После подписания информированного согласия на базе кардиологического отделения НИИ кардиологии г. Томска в исследование включены 132 больных с ИБС (со стенокардией напряжения II–III функциональных классов после перенесенного инфаркта миокарда давностью более 6 мес): 58 пациентов с ДР (1 группа) и 74 пациента без ДР (вторая группа). Для диагностики и определения степени тяжести ДР использовалась шкала депрессии Бека (BDI) (повышенный уровень депрессии считался более 19 по BDI). При повышенном уровне депрессии по шкале Бека для подтверждения диагноза ДР проводилась консультация психиатра-психотерапевта. Также мы использовали шкалу самооценки тревоги Шихана (ShARS) для выявления расстройств сна и коморбидности ДР с тревогой. Нарушения сна оценивались при анализе 30-го и 31-го пунктов шкалы Шихана (ShARS). Данные представлены в виде $M \pm SD$; n (%); Me [25%; 75%]. За уровень статистической значимости различий принимался $p < 0,05$. Для проверки на нормальность распределения фактических данных использован критерий Шапиро – Уилка. При нормальном распределении выборки использовался t -критерий Стьюдента, при непараметрическом распределении и количестве групп, равным 2, применяли критерий Манна – Уитни. Для анализа качественных переменных применялись таблицы сопряженности и критерий χ^2 Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По основным клинико-демографическим характеристикам пациенты не различались. Но в группе ИБС с ДР отмечена тенденция к более частой коморбидности заболеваний у женщин: в 1-й группе

47 мужчин (81%) и 11 женщин (19%), во второй – 68 мужчин (91,9%) и 6 женщин (8,1%) ($p = 0,06$). Средний возраст в 1-й и 2-й группах был сопоставим и составил $55,5 \pm 5,9$ лет vs $54 \pm 7,4$ лет ($p > 0,05$). После консультации психиатра диагностированы следующие нозологии: рекуррентное депрессивное расстройство – 37,9%, депрессивный эпизод – 27,6%, дистимия – 25,9%, биполярное расстройство – 8,6% (рис. 1). Среди депрессивных эпизодов преобладали умеренно выраженные – 92%.

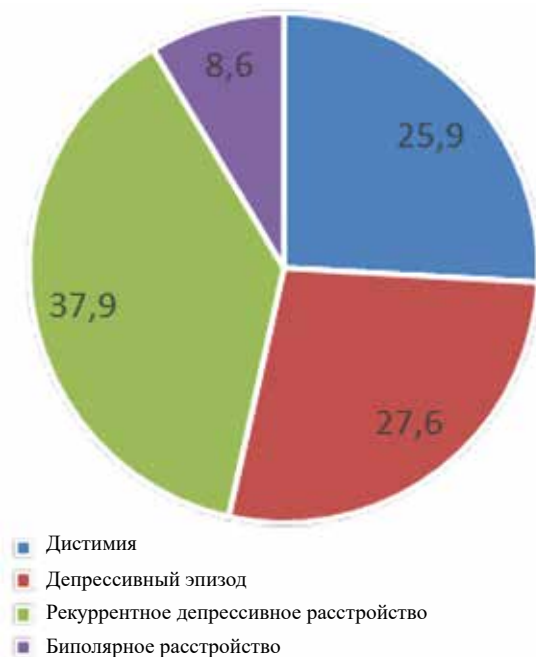


Рисунок. Структура диагноза депрессивных расстройств при хронической ИБС после перенесенного инфаркта миокарда

По результатам анализа шкалы самооценки тревоги Шихана (ShARS) отмечена высокая коморбидность с тревожными расстройствами (53,4%). Для изучения наличия и выраженности инсомнии использовали клинический опрос и шкалу самооценки тревоги Шихана (пункты 30 и 31 – нарушение засыпания и ночные пробуждения соответственно).

Нарушение засыпания в общей группе пациентов: нет или клинически не значимы – у 62 пациентов (54,9%), клинически значимые – у 51 пациента (45,1%). Ночные пробуждения в общей группе пациентов: у 66 (58,4%) – нет или клинически незначимые ночные пробуждения, клинически значимые – у 47 (41,6%). Нарушения засыпания и ночные пробуждения были значительно выражены у пациентов ИБС с выявленными ДР в сравнении с больными без расстройств психики: нарушения засыпания 2 [1; 3] vs 1 [0; 2] ($p = 0,0001$), ночные пробуждения 2 [1; 3] vs 1 [0; 2] соответственно (0,00002). В группе ИБС с

ДР ($n = 58$) 2 человека (3,4%) не заполнили шкалу. Среди заполнивших 12 пациентов (21,4%) не имели проблем с засыпанием, 9 (16,1%) имели небольшие нарушения, 35 (62,5%) – клинически выраженные нарушения. В группе ИБС без ДР ($n = 74$) 17 человек (23%) не заполнили шкалу. Среди заполнивших ($n = 57$) 21 пациент (36,8%) не имел проблем с засыпанием, 20 (35,1%) имели немного проблем, 16 пациентов (28,1%) – клинически выраженные нарушения. У больных ИБС в сочетании с ДР и заполнивших ShARS ($n = 56$) 7 (12,5%) не пробуждались ночью, 17 (30,4%) имели небольшие нарушения, у 32 (57,1%) – клинически выраженные нарушения поддержания сна. В группе без ДР среди заполнивших шкалу Шихана ($n = 57$) 18 (31,6%) не пробуждались ночью, 24 (42,1%) пробуждались немного, у 15 (26,4%) были клинически выраженные нарушения поддержания сна. По всем пунктам тестирования отмечены значимые различия ($p < 0,0005$).

ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении многих лет изучается взаимосвязь двух лидирующих заболеваний – ишемической болезни сердца и депрессивных расстройств. Данные крупных исследований (Cardiovascular Health Study, MONICA, ENRICH, INTERHEART, SADHART) доказывают, что депрессия является мощным прогностическим фактором сердечно-сосудистых осложнений. Взаимосвязь ИБС и ДР неслучайна, так как существуют общие патогенетические механизмы заболеваний и причин смертности. Выделяют два основных механизма, которые являются причиной внезапной смерти у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: повышенное тромбообразование и нарушение вегетативной регуляции ритма сердца с развитием тяжелых аритмий [10, 11].

Известно, что вегетативная регуляция работы сердца тесно связана с циркадианными ритмами и качеством сна у пациентов ИБС [12]. Учитывая тот факт, что часто ДР вовремя не диагностируются [1], а нарушения сна являются одним из проявлением и диагностическим критерием аффективных расстройств, то при наличии инсомнии мы всегда можем заподозрить расстройство психики и направить к специалисту. В нашем исследовании мы проанализировали нарушения сна у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе в сочетании с ДР. Для оценки инсомнии мы использовали современный психометрический инструмент – шкалу самооценки тревоги Шихана (ShARS). Оказалось, что существует высокая коморбидность ДР с тревожными расстройствами (53,4%), что совпадает с данными литературы. Согласно эпидемиологическим

исследованиям, у 60% пациентов с депрессией присутствуют симптомы тревоги [13].

По данным нашего исследования, нарушения сна встречались у пациентов с коронарной болезнью и без расстройств психики. Приблизительно каждый третий имел небольшие проблемы в засыпании, каждый четвертый – выраженные проблемы в засыпании и поддержании сна. И, вероятно, на этом этапе пациенту уже нужна поддержка в рамках комплексной реабилитации: доверительный контакт «врач – пациент» с целью осведомленности пациента о своем заболевании, вторичной профилактике, здоровом образе жизни, поддержание комплаенса в плане терапии, психологическая или психотерапевтическая помощь для профилактики развития клинически значимой тревожно-депрессивной симптоматики.

В свою очередь, при развитии ДР у пациентов с ИБС значительно возрастает степень выраженности нарушений сна: больше половины пациентов имели выраженные нарушения как засыпания (62,5% случаев), так и поддержания сна в течение всей ночи (57,1% случаев). Учитывая, что при нарушениях сна возникающий стресс вызывает гиперактивацию симпатно-адреналовой системы, вегетативную дисфункцию [14], это может спровоцировать ухудшение клинической картины ИБС и стать причиной серьезных осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Конечно, полученные данные диктуют необходимость пристального внимания к больным коронарной болезнью и расстройствам психики, своевременного скрининга ДР и эффективной коррекции современными антидепрессантами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с хронической коронарной болезнью на фоне ДР выявляются изменения в суточном ритме в виде значительных нарушений засыпания и пробуждений, что может усугубить клиническое течение ИБС и прогноз больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Выявление нарушений сна с помощью опроса и использования психометрических инструментов позволит заподозрить наличие ДР и вовремя назначить антидепрессивную терапию, улучшая клиническую картину коронарной болезни и снижая риск развития жизнеугрожающих осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Погосова Н.В., Соколова О.Ю., Юферева Ю.М., Курсаков А.А., Аушева А.К., Арутюнов А.А. и др. Психосоциальные факторы риска у пациентов с наиболее распространенными сердечно-сосудистыми заболеваниями – артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца (по данным российского многоцентрового исследования КОМЕТА). *Кардиология*. 2019;59(8):54–63. DOI: 10.18087/cardio.2019.8.n469.
2. Погосова Н.В., Оганов Р.Г., Бойцов С.А., Аушева А.К., Соколова О.Ю., Курсаков А.А. и др. Психосоциальные факторы и качество жизни у пациентов с ишемической болезнью сердца: результаты российской части международного многоцентрового исследования EUROASPIRE IV. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2017;16(5):20–26. DOI: 10.15829/1728-8800-2017-5-20-26.
3. Белялов Ф.И. Депрессия, тревога и стресс у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Терапевтический архив*. 2017;89(8):104–109. DOI: 10.17116/terarkh2017898104-109.
4. Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н. Клинические особенности ишемической болезни сердца и 5-летняя выживаемость больных после перенесенного инфаркта миокарда на фоне депрессивных расстройств. *Терапевтический архив*. 2024;96(1):17–21. DOI: 10.26442/00403660.2024.01.202560.
5. Patel H., Mazur W., Williams K.A., Kalra D.K. Myocardial viability-State of the art: Is it still relevant and how to best assess it with imaging? *Trends Cardiovasc. Med*. 2018;28(1):24–37. DOI: 10.1016/j.tcm.2017.07.001.
6. Khandaker G.M., Zuber V., Rees J.M.B., Carvalho L., Mason A.M., Foley C.N. et al. Shared mechanisms between coronary heart disease and depression: findings from a large UK general population-based cohort. *Molecular Psychiatry*. 2020;25(7):1477–1486. DOI: 10.1038/s41380-019-0395-3.
7. Пушкарев Г.С., Кузнецов В.А., Фишер Я.А., Солдатова А.М., Сапожникова А.Д., Енина Т.Н. Влияние депрессивной симптоматики на риск смерти от всех причин у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, перенесших сердечную ресинхронизирующую терапию. *Кардиология*. 2019;59(1):5–11. DOI: 10.18087/cardio.2019.1.10211.
8. Гафаров В.В., Гафарова А.В. Программа Всемирной организации здравоохранения «Регистр острого инфаркта миокарда» как аудит оценки здоровья населения. *Вестник НГУЭУ*. 2015;4:200–222.
9. Roth T., Roehrs T. Insomnia: epidemiology, characteristics, and consequences. *Clinical Cornerstone*. 2003;5(3):5–15. DOI: 10.1016/s1098-3597(03)90031-7.
10. Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н. Особенности вариабельности ритма сердца у пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессивными расстройствами. Влияние агонистов мелатонина на вариабельность ритма сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(1):40–49. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-1-40-49.
11. Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н. Возможности выявления и коррекции сниженной вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессиями в условиях кардиологического отделения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):65–70. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-65-70.
12. Ибатов А.Д. Особенности эмоционального статуса и

- вегетативной регуляции у больных с ишемической болезнью сердца с нарушением сна. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(1):21–25. DOI: 10.17116/jnevro202112101121.
13. Salcedo B. The comorbidity of anxiety and depression. *National Alliance on Mental Illness*. 2018;325–333.
14. Попонина Т.М., Гундерина К.И., Попонина Ю.С., Солдатенко М.В. Влияние агонизма на показатели вариабельности ритма сердца у больных с тревожно-депрессивными расстройствами, перенесших острый коронарный синдром. *Сибирский медицинский журнал*. 2018;33(3):36–45. DOI: 10.29001/2073-8552-2018-33-3-36-45.

Информация об авторах

Нонка Татьяна Геннадьевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение амбулаторной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tatiananonka@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7913-3732>

Лебедева Елена Владимировна – д-р мед. наук, науч. сотрудник, отделение амбулаторной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, evl26021971@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6117-64>

Репин Алексей Николаевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения амбулаторной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, ran_12@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7123-0645>

Счастный Евгений Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, evgeny.schastnyy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2148-297X>

(✉) **Нонка Татьяна Геннадьевна**, tatiananonka@gmail.com

Поступила в редакцию 14.06.2024;
одобрена после рецензирования 27.06.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 615.284.036:616-092.4

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-111-119>

Новый подход к оценке эффективности антигельминтных средств *in vitro*

Перина Е.А., Буйко Е.Е., Каминский И.П., Собакин Д.С., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Удут Е.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Разработать новый метод определения жизнеспособности описторхов *in vitro* с использованием MTS-реактива и оценить его применимость для анализа эффективности антигельминтных средств при лечении описторхоза.

Материалы и методы. Для создания модели инвазии *O. felinus* использовались золотистые сирийские хомяки. Животные инфицировались метацеркариями, полученными из рыб семейства карповых. Спустя 3 мес после заражения взрослые особи паразитов (мариты) извлечлись из гепатобилиарной системы. Жизнеспособность марит оценивалась с помощью шкалы подвижности и нового метода, основанного на модификации протокола MTS-теста. Для учета различий между размерами и количеством клеток марит результаты были нормализованы относительно содержания белка. Для оценки возможности применения нового подхода в изучении противоописторхозной фармакологической активности проверена жизнеспособность марит в присутствии празиквантела.

Результаты. При инкубации марит описторхов в среде с добавлением MTS-реактива происходит накопление окрашенного водорастворимого формазана. Термическое инактивирование паразитов значительно снижает продукцию этого соединения. Так как исследуемые мариты различались по размеру и количеству клеток, полученные данные об их жизнеспособности были нормированы на содержание белка. Результаты коррелируют с данными о жизнеспособности паразитов, полученными традиционным методом с использованием шкалы подвижности. Оценка эффективности празиквантела в разных концентрациях с помощью двух независимых методов (MTS-тест и шкала подвижности) показала, что результаты MTS-теста согласуются с литературными данными и сопоставимы с результатами, полученными с использованием шкалы подвижности.

Заключение. Разработан новый метод оценки противоописторхозной активности лекарственных препаратов *in vitro*, основанный на оценке продукции водорастворимого формазана маритами *O. felinus* в среде культивирования с использованием MTS-реагента для скрининга противоописторхозной активности новых антигельминтных препаратов.

Ключевые слова: трематодоз, *O. felinus*, жизнеспособность, MTS-тест, празиквантел, антигельминтные средства, двигательная активность

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках реализации государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) № 056-03-2024-063 от 24.01.2024, дополнительное соглашение № 056-03-2024-063/3 от 29.08.2024 «Разработка нового лекарственного средства на основе природного комплекса фенолгликозидов и арабиногалактанов для терапии трематодозов».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (заключение № 1 от 02.09.2024).

✉ Перина Екатерина Александровна, catherineperina@gmail.com

Для цитирования: Перина Е.А., Буйко Е.Е., Каминский И.П., Собакин Д.С., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Удут Е.В. Новый подход к оценке эффективности антигельминтных средств *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):111–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-111-119>.

A new approach to assessing the efficacy of anthelmintic agents *in vitro*

Perina E.A., Buyko E.E., Kaminskiy I.P., Sobakin D.S., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Udut E.V.

Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To develop a new method to determine the viability of *Opisthorchis felineus in vitro* using the MTS reagent and to evaluate its applicability for analyzing the efficacy of anthelmintic agents in the treatment of opisthorchiasis.

Materials and methods. Golden hamsters were used to create a model of *O. felineus* infection. The animals were infected with metacercariae obtained from fish of the Cyprinidae family. Three months after infection, adult parasites were extracted from the hepatobiliary system. Their viability was assessed using the motility scale and a new method based on the modified MTS test protocol. To account for differences between the size and number of adult parasite cells, the results were normalized with respect to protein content. To evaluate the feasibility of the new approach in the study of pharmacological activity against opisthorchiasis, the viability of adult parasites in the presence of praziquantel was tested.

Results. During incubation of adult flukes in a medium with the addition of the MTS reagent, colored water-soluble formazan was accumulated. Thermal inactivation of parasites significantly decreased the production of this compound. Since the studied adult parasites differed in size and number of cells, the obtained data on their viability were normalized to protein content. The results correlated with the data on parasite viability obtained by the traditional method using the motility scale. Evaluation of praziquantel efficacy at different concentrations using two independent methods (the MTS test and the motility scale) showed that the results of the MTS test were consistent with literature data and comparable with the results obtained using the motility scale.

Conclusion. A new method for *in vitro* evaluation of anti-opisthorchiasis activity of drugs was developed. It is based on the assessment of water-soluble formazan production by adult *O. felineus* flukes in the culture medium using the MTS reagent for screening anti-opisthorchiasis activity of new anthelmintic drugs.

Keywords: trematode infection, *O. felineus*, viability, MTS test, praziquantel, anthelmintic agents, motility

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

Source of financing. The study was carried out as part of the state assignment for the provision of public services No. 056-03-2024-063 of 24.01.2024, supplementary agreement No. 056-03-2024-063/3 of 29.08.2024 “Development of a new drug based on a natural complex of phenolic glycosides and arabinogalactanes for the treatment of trematodosis”.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Commission for the control over the maintenance and use of laboratory animals of the Center for Preclinical Research of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University (Conclusion No. 1 of 02.09.2024).

For citation: Perina E.A., Buyko E.E., Kaminskiy I.P., Sobakin D.S., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Udut E.V. A new approach to assessing the efficacy of anthelmintic agents *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):111–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-111-119>.

ВВЕДЕНИЕ

Печеночный сосальщик *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*) входит в триаду эпидемиологически значимых видов печеночных сосальщиков семейства Opisthorchiidae и является основным возбудителем описторхоза на обширной территории, охватывающей Россию, Казахстан и ряд европейских стран [1]. Недавнее исследование, проведенное О.С. Федорова и соавт. (2023), показало, что распространение инфекции *O. felineus* в популяции тесно связано с развитием холангиокарциномы [2]. Кроме того, описторхоз может провоцировать развитие абсцессов печени и панкреатитов [1]. Таким образом, трематодозы являются группой опасных инфекционных заболеваний, представляющих значительную угрозу для общественного здравоохранения [3].

Основной подход, рекомендуемый Всемирной организацией здравоохранения для снижения уровня заболеваемости описторхозом, заключается в повышении доступности безопасного и эффективного медикаментозного лечения. На сегодняшний день единственным рекомендованным средством для терапии описторхоза является празиквантел (PZQ). Разработка новых лекарственных препаратов для лечения трематодозов имеет высокий приоритет, поскольку существует вероятность развития резистентности печеночных сосальщиков к PZQ [4]. Действительно, исследования *in vitro* подтвердили, что штаммы взрослых гельминтов, подвергающиеся постоянному воздействию PZQ, демонстрируют повышенную устойчивость к действию препарата [5]. Кроме того, PZQ не обладает профилактическим действием и неэффективен против личинок паразита, что представляет серьезный пробел при разработке стратегий массовой химиопрофилактики в регионах с высокой заболеваемостью [6].

Таким образом, учитывая ограничения существующих профилактических и терапевтических подходов, необходимо создание новых терапевтических агентов, способных эффективно подавлять активность паразита на всех стадиях его жизненного цикла.

Оценка жизнеспособности трематод играет ключевую роль в создании новых методов борьбы с этими паразитами. В настоящее время широко используется метод оценки подвижности паразитов путем визуального осмотра во время микроскопии [7, 8], реже – изучение ультраструктурной целостности с помощью сканирующей электронной микроскопии [8]. Первый метод является полуколичественным и требует высокого уровня подготовки специалиста,

осуществляющего наблюдения, второй – более трудоемким и сопряжен с существенными экономическими затратами.

На данный момент в фармакологических исследованиях *in vitro* применяется широкий спектр реактивов для анализа жизнеспособности культивируемых клеток. Среди наиболее распространенных методик выделяют методы прижизненного или посмертного окрашивания с последующей спектрофотометрической или флуориметрической детекцией и люминометрический анализ [9]. В отдельных работах упоминается возможность оценки жизнеспособности спорозист *Schistosoma mansoni* путем окрашивания флуоресцентным красителем пропидием йодида [10] или трипановым синим [11]. Отдельный интерес представляет возможность использования 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), широко применяемого в работе с клеточными культурами, для оценки жизнеспособности паразитов [7, 12].

Однако все обнаруженные упоминания относятся исключительно к исследованию жизнеспособности возбудителей шистосомоза (*Schistosoma mansoni*). Информация о применении протокола, основанного на использовании реактива МТТ в отношении описторхов, в доступной научной литературе отсутствует. Важно отметить, что формазан, образующийся в результате восстановления молекул МТТ митохондриальными ферментами живых клеток, не растворяется в воде и образует в клетках фиолетовые кристаллы [9]. Это означает, что для количественного измерения образованного формазана перед определением оптической плотности требуется использовать органические растворители, такие как диметилсульфоксид (ДМСО) или изопропанол, что усложняет применение этого метода к многоклеточным организмам, включая марит описторхов.

МТТ-тест является стандартным методом оценки жизнеспособности клеток и определения цитотоксичности соединений. При его выполнении необходимо учитывать продолжительность инкубации и плотность рассадки клеток, чтобы обеспечить точность и воспроизводимость результатов [9]. Однако существенное ограничение применения МТТ-теста для определения жизнеспособности многоклеточного организма связано с невозможностью корректного учета различий в размерах и количестве клеток, что может привести к искажению итоговых данных и неверной интерпретации результатов.

Более простым и надежным анализом является МТС-тест, основанный на использовании модифи-

цированной молекулы МТТ. Этот тест позволяет живым клеткам непосредственно в культуральной среде производить водорастворимый окрашенный формазан, что упрощает процесс анализа [9].

Разработка простого и доступного протокола для оценки жизнеспособности марит печеночного сосальщика *O. felineus* позволит упростить скрининг потенциальных терапевтических средств, обладающих противоописторхозной активностью.

Цель исследования: разработать новый метод определения жизнеспособности описторхов *in vitro* с использованием MTS-реактива и оценить его применимость для анализа эффективности антигельминтных средств при лечении описторхоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Золотистые сирийские хомячки (*Mesocricetus auratus*) приобретены в виварии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск, Россия). Использование животных в рамках настоящего исследования одобрено комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (заключение № 1 от 02.09.2024).

В качестве источника первичного биологического материала, содержащего метацеркарии описторхов, использована рыба карповых пород, выловленная в реках Обского бассейна на территории Томской области. Метацеркарии описторхов выделены из зараженной рыбы методом переваривания в искусственном желудочном соке [13, 14].

Через 3 мес после заражения животные подвергнуты эвтаназии, из гепатобилиарного тракта извлечены мариты *O. felineus*. Мариты после промывки в буфере (200 ЕД/мл пенициллина – стрептомицина в 1 × PBS) помещены в лунки планшетов, заполненные культуральной средой (RPMI 1640, 100 ЕД/мл пенициллин – стрептомицин, 10 г/л глюкозы, 2 г/л бикарбоната натрия) при 37 °С в атмосфере 5%-го CO₂ [15]. Оценка жизнеспособности марит описторхов проведена сразу после выделения из желчных протоков печени инфицированных хомячков и через 24 ч инкубации в полной культуральной среде.

Новый предлагаемый метод оценки жизнеспособности взрослых форм *O. felineus* включает использование MTS-реактива и на первых этапах совпадает с ранее предложенными протоколами, включающими использование МТТ-теста [7, 12]. Мариты помещают в эппендорфы (1,5 мл), содержащие 200 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS) и 40 мкл MTS реагента (Promega, США), и инкуби-

руют при 37 °С в течение 2 ч. Инкубационную среду отбирают, центрифугируют при 5 000 об/мин 10 мин для осаждения яиц печеночного сосальщика и экскреторно-секреторных продуктов, надосадочную жидкость разносят по лункам 96-луночного планшета и измеряют оптическую плотность среды при 492 нм с использованием многофункционального микропланшетного ридера Tecan 200 infinite pro (Tecan, Австрия). В качестве отрицательного контроля мариты перед тестом подвергают температурной обработке при 65 °С в течение 30 мин, что, как известно, приводит к их гибели [14].

Для компенсации различий в размере и клеточности марит значения оптической плотности были нормализованы по количеству белка, содержание которого во взрослых формах печеночного сосальщика определено методом, основанным на реакции с бицихониновой кислотой, с использованием набора BCA Protein Assay Kit (Sigma Aldrich, США) [16]. Для этого мариты гомогенизировали в лизирующем буфере (0,1%-й SDS, 0,1M NaOH) с последующей обработкой ультразвуком (Bandelin Sonoplus 2070, Германия). После центрифугирования (3 000 g в течение 10 мин) в отобранном супернатанте определено содержание белка.

Итоговую величину жизнеспособности определяли как разницу между оптической плотностью среды в опытных лунках после проведения MTS-теста и средним значением оптической плотности образцов, подвергшихся термической обработке. Полученное значение нормализовано на содержание белка в каждом печеночном сосальщике.

Для оценки перспектив применения нового подхода в изучении специфической фармакологической активности противоописторхозных средств, изолированные мариты печеночного сосальщика культивировали в полной среде в течение 24 ч в присутствии PZQ в конечных концентрациях 0,1; 0,5; 1 и 10 мкг/мл. После инкубации с PZQ жизнеспособность марит описторхов оценивали двумя независимыми методами: стандартным полуколичественным методом оценки подвижности паразитов и новым разработанным количественным методом, основанным на продукции водорастворимого формазана живыми клетками марит в среду инкубации при использовании MTS-реактива с учетом количественного содержания белка.

Двигательную активность марит *O. felineus* оценивали визуально с использованием общепринятой шкалы [14, 17]. Качественные характеристики двигательной активности описывали с помощью абсолютной частоты, а также с использованием величины процентного отношения. Для каждой концентрации

PZQ использовали 10 марит. Подвижность жизнеспособных червей оценивалась по шкале от 0 до 3 ([+++] очень активный (движение аналогично контрольным сосальщикам), [++] активный (снижение подвижности по сравнению с контролем, однако движения тела сохранены), [+] снижение жизнеспособности (только движения ротовой присоски) и [–] неподвижность) [17]. Средний показатель подвижности паразитов рассчитывали для каждой концентрации PZQ и выражали в процентах относительно контрольных значений.

Экспериментальные данные обработаны с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Все результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Для проверки значимости различий между исследуемыми группами использованы непараметрические критерии Краскела – Уоллиса и Шапиро – Уилка с применением поправки на множественное сравнение Бенжамини – Хохтеберга. Статистически значимые считали различия при уровне значимости $p < 0,05$ и $p < 0,001$. Для расчета концентрации PZQ, при которой жизнеспособность червей снижалась на 50% (IC50) после 24 ч инкубации, был использован нормализованный нелинейный регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты экспериментов показали, что при инкубации свежееизвлеченных из печени зараженных хомяков марит описторхов с добавлением MTS-реактива в культуральной среде образуется окрашенный водорастворимый формаза, причем среднее значение оптической плотности в лунках составило $1,018 \pm 0,109$ ($n = 10$) (рис. 1).

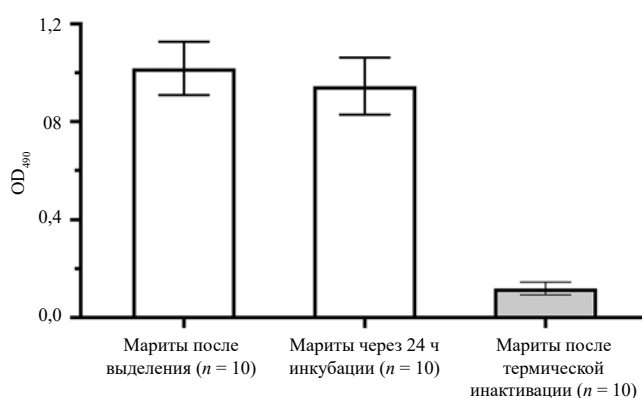


Рис. 1. Продукция водорастворимого формаза в среде инкубации марит непосредственно после выделения из желчных протоков печени инфицированных хомяков, через 24 ч инкубации в полной культуральной среде и после термической инактивации (65 °C, 30 мин)

Известно, что повышенная температура (65 °C в течение 30 мин) приводит к гибели марит [14]. Действительно, после термической инактивации марит в этих условиях в среде инкубации не отмечалось значительного образования формаза (см. рис. 1). Поэтому в дальнейшем при расчете жизнеспособности марит с использованием MTS-реактива эта лунка в планшете принималась за контрольный образец (blank), относительно которого проводились измерения.

После 24-часовой инкубации марит в полной культуральной среде в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °C количество формаза в среде, определенное с помощью MTS-теста, не отличалось от показателей, полученных для свежееизвлеченных зрелых форм *O. felinus* (см. рис. 1). Эти результаты, во-первых, подтверждают сохранение жизнеспособности марит описторхов в указанных условиях культивирования и, во-вторых, свидетельствуют о том, что накопление водорастворимого формаза в среде инкубации при проведении MTS-теста действительно отражает жизнеспособность марит.

Процесс восстановления тетразолия происходит в ходе окислительного метаболизма в митохондриях клеток [9], а изолированные из печени хомяков печеночные сосальщики отличаются по размеру и клеточности. Поэтому более объективным показателем для оценки жизнеспособности червей является нормализация количества образовавшегося формаза на содержание белка в марите.

Действительно, количество образующегося формазанового продукта, выраженное в единицах оптической плотности после выполнения MTS-теста, положительно коррелирует с содержанием белка в маритах *O. felinus* (рис. 2). Поэтому в дальнейших экспериментах полученные данные о жизнеспособности паразитов были нормализованы по количеству белка.

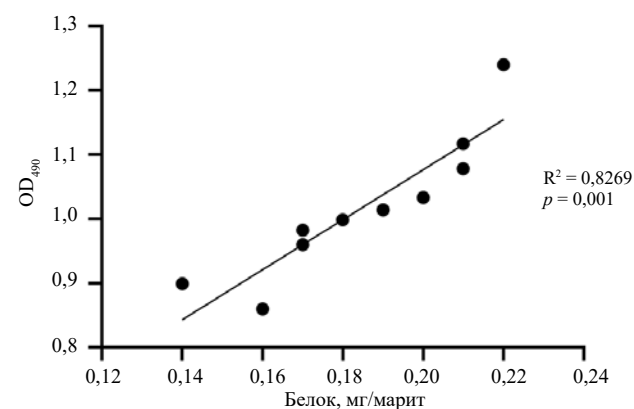


Рис. 2. Взаимосвязь между накоплением формаза в среде инкубации марит при проведении MTS-теста и содержанием в них белка, $n = 10$

Празиквантел в настоящее время является одним из самых распространенных противопаразитарных препаратов, используемых для лечения таких заболеваний, как описторхоз, клонорхоз, шистосомоз и других трематодозов. В ряде эндемичных регионов он активно применяется в рамках программ профилактической химиотерапии против паразитарных инфекций [18, 19]. На модели *in vitro* мы изучили влияние празиквантела PZQ в концентрациях 0,1; 0,5; 1 и 10 мкг/мл на жизнеспособность марит *O. felinus* в среде инкубации. Инкубация марит в течение 24 ч с возрастающими концентрациями PZQ в культуральной среде (0,1; 0,5; 1 и 10 мкг/мл) приводит к дозозависимому снижению подвижности червей вплоть до полной иммобилизации, а также частичному изменению их окраски (таблица).

Таблица

Двигательная активность марит <i>O. felinus</i> через 24 ч после добавления в среду различных концентраций празиквантела (PZQ) <i>in vitro</i>				
Концентрация PZQ, мкг/мл	Количество марит <i>O. felinus</i> (%) в соответствии со шкалой подвижности			
	0	1	2	3
0	0	0	0	10
	0	0	0	100
0,1	0	9	1	0
	0	90	10	0
0,5	6	4	0	0
	60	40	0	0
1	8	2	0	0
	80	20	0	0
10	10	0	0	0
	100	0	0	0

Примечание. Шкала подвижности: 3 – нормальная двигательная активность марит *O. felinus*; 2 – редуцированная двигательная активность; 1 – очень слабая двигательная активность, видима только при увеличении микроскопа $\times 20$; 0 – отсутствие двигательной активности или смерть марит *O. felinus*, регистрируется при отсутствии движения в течение 2 мин наблюдения только при $\times 20$.

Внесение PZQ в концентрации 0,1 мкг/мл в среду культивирования паразитов приводит к параличу мышечной ткани *O. felinus*, снижая до минимальных значений их двигательную активность, но сохраняя их жизнеспособность в течение 24 ч экспозиции. При концентрации PZQ 0,5 мкг/мл 40% марит *O. felinus* характеризовались очень слабой двигательной активностью (по шкале подвижности соответствует 1), а у 60% двигательная активность отсутствовала. При повышении концентрации PZQ в инкубационной среде до 1 мкг/мл 80% марит *O. felinus* демонстрировали отсутствие двигательной активности (по шкале подвижности соответствует 0). В концентрации PZQ 10 мкг/мл у 100%

марит двигательная активность также отсутствовала (см. таблицу).

При этом наблюдается дозозависимое уменьшение выработки водорастворимого формазана в среде инкубации под воздействием препарата. Процент жизнеспособности культивируемых марит составил 63,7; 38,9; 26,5 и 6,4% при концентрациях празиквантела 0,1; 0,5; 1 и 10 мкг/мл соответственно (за 100% взяты значения продукции формазана в инкубационной среде без препарата) (рис. 3). Результаты соотносятся с данными, полученными независимым методом по оценке жизнеспособности марит с использованием шкалы подвижности (см. таблицу).

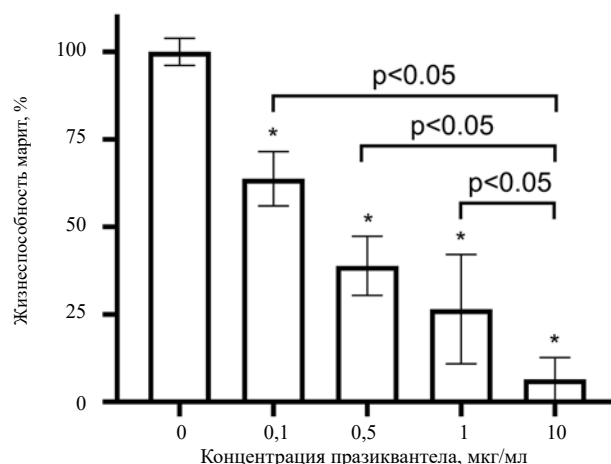


Рис. 3. Влияние различных концентраций празиквантела (мкг/мл) на жизнеспособность марит описторхов при их культивировании в течение 24 ч, $n = 10$. * $p < 0,05$ в сравнении с контролем

В качестве интегрального показателя, характеризующего противоописторхозную активность PZQ, использовали значение IC50 (концентрация, вызывающая гибель 50% клеток марит через 24 ч инкубации с препаратом). Нелинейный регрессионный анализ показал, что величина IC50 для марит *O. felinus* через 24 ч инкубации с PZQ составила 0,24 мкг/мл.

Таким образом, предложенный подход с использованием MTS-теста, учитывающий содержание белка в пробах, представляет собой объективный количественный метод анализа жизнеспособности марит печеночного сосальщика *O. felinus* и может применяться для оценки эффективности новых антигельминтных средств *in vitro*.

ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день PZQ остается единственным препаратом выбора для лечения описторхоза. Учитывая потенциальный риск развития резистентности у печеночных сосальщиков к PZQ, разработка

новых лекарственных средств для лечения трематодозов остается актуальной задачей и имеет высокий приоритет [4].

При оценке антигельминтных свойств новых соединений часто требуется определение жизнеспособности паразита *in vitro* при его инкубации с разными концентрациями исследуемого лекарственного вещества. В настоящее время для определения жизнеспособности *O. felineus* применяют шкалу подвижности паразита от 0 до 3 [14]. Данный метод не стандартизован, трудоемок и зависит от субъективной оценки исследователя.

Более объективный подход к оценке жизнеспособности трематод впервые был продемонстрирован в экспериментах с *Schistosoma mansoni* с использованием МТТ-теста [19]. Этот метод наиболее часто используется для оценки количества жизнеспособных клеток в культуре и основан на способности митохондриальных и цитоплазматических дегидрогеназ живых и метаболически активных клеток восстанавливать производные тетразолия – МТТ-реагент в водонерастворимый формазан, для определения количества которого необходима экстракция красителя ДМСО [20]. Однако в данном исследовании не учитываются различия в клеточности зрелых форм *S. mansoni*, что является важным ограничением при интерпретации результатов.

Недавно в арсенале лабораторных методов оценки жизнеспособности клеток появился тетразолиевый краситель второго поколения – МТS [21], который с участием феназинметасульфата восстанавливается в среде культивирования до окрашенного водорастворимого формазана, что позволяет значительно ускорить анализ и получить более объективные результаты.

В данном исследовании была предпринята попытка разработать скрининговый метод оценки противоописторхозной активности лекарственных препаратов *in vitro* с использованием МТS-теста.

При анализе результатов проведенных экспериментов установлено, что при инкубации марит описторхов в среде с добавлением реагента МТS-теста накапливается окрашенный водорастворимый формазан. Термическая инактивация паразитов приводит кратно меньшей продукции окрашенного соединения. Это подтверждает, что МТS-тест, традиционно используемый для оценки жизнеспособности клеток при культивировании *in vitro* [22], действительно позволяет оценить митохондриальную метаболическую активность клеток многоклеточных организмов, таких как мариты, и таким образом определять их жизнеспособность.

Так как исследованные мариты различались по размеру и, соответственно, количеству клеток, дан-

ные об их жизнеспособности были нормализованы по содержанию белка. Продукция формазана маритами, выраженная через содержание в них белка, соответствовала результатам оценки жизнеспособности паразита, полученным с помощью традиционного метода с использованием шкалы подвижности [13].

Также двумя независимыми методами (МТS-тест и использование шкалы подвижности) было исследовано влияние разных концентраций PZQ, препарата выбора для лечения описторхоза, на жизнеспособность марит *in vitro*. Результаты, полученные при использовании МТS-теста, соответствуют данным по оценке жизнеспособности марит с использованием шкалы подвижности. Для PZQ был рассчитан показатель IC₅₀, определяемый как концентрация, необходимая для гибели 50% клеток марит через 24 ч инкубации с препаратом, которая составила 0,24 мкг/мл. Полученные результаты сопоставимы с литературными данными о том, что IC₅₀ для PZQ, определенная другими методами, составляет 0,16 мкг/мл для *O. viverrini* [23] и 0,14 мкг/мл *O. felineus* [14].

Таким образом, нами был разработан количественный метод исследования противоописторхозной активности лекарственных препаратов *in vitro*, основанный на оценке продукции водорастворимого формазана маритами *O. felineus* в среде культивирования методом МТS-теста с учетом содержания белка в образце.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный новый метод оценки противоописторхозной активности лекарственных препаратов *in vitro* основан на оценке продукции водорастворимого формазана маритами *O. felineus* в среде культивирования с использованием МТS-реагента. Полученные результаты совпадают с показателями жизнеспособности паразитов, определенными по традиционной методике с применением шкалы подвижности. Более объективным показателем для выражения жизнеспособности марит *O. felineus* является нормализация оптической плотности образующегося формазана на количество белка в паразите.

Результаты оценки эффективности препарата выбора для лечения описторхоза – PZQ с использованием МТS-теста *in vitro* соотносятся с опубликованными научными данными, что позволяет считать разработанный подход простым и доступным методом для исследования противоописторхозной активности новых антигельминтных средств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pakharukova M.Y., Mordvinov V.A. The liver fluke *Opisthorchis felineus*: biology, epidemiology and carcinogenic

- potential. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016;110(1):28–36. DOI: 10.1093/trstmh/trv085.
2. Fedorova O.S., Kovshirina A.E., Kovshirina Y.V., Hattendorf J., Onishchenko S.V., Katanakhova L.L. et al. *Opisthorchis felinus* infection is a risk factor for cholangiocarcinoma in Western Siberia: A hospital-based case-control study. *Clinical Infectious Diseases*. 2023;7(3):e1392–e1398. DOI: 10.1093/cid/ciac497.
 3. Khalil R.G., Ibrahim A.M., Bakery H.H. Juglone: “A novel immunomodulatory, antifibrotic, and schistosomicidal agent to ameliorate liver damage in murine schistosomiasis mansoni”. *International Immunopharmacology*. 2022;113:109415. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109415.
 4. Pakharukova M.Y., Samsonov V.A., Serbina E.A., Mordvinov V.A. A study of tribendimidine effects *in vitro* and *in vivo* on the liver fluke *Opisthorchis felinus*. *Parasites Vectors*. 2019;12(23):1–6. DOI: 10.1186/s13071-019-3288-z.
 5. Harder A. Activation of transient receptor potential channel Sm. (*Schistosoma mansoni*) TRPM PZQ by PZQ, enhanced Ca⁺⁺ influx, spastic paralysis, and tegumental disruption—the deadly cascade in parasitic schistosomes, other trematodes, and cestodes. *Parasitology Research*. 2020;119:2371–2382. DOI: 10.1007/s00436-020-06763-8.
 6. Spangenberg T. Alternatives to praziquantel for the prevention and control of schistosomiasis. *ACS Infectious Diseases*. 2020;7(5):939–942. DOI: 10.1021/acinfed.0c00542.
 7. Detoni M.B., Bortoleti B.T.D.S., Tomiotto-Pellissier F., Concato V.M., Gonçalves M.D., Silva T.F. et al. Biogenic silver nanoparticle exhibits schistosomicidal activity *in vitro* and reduces the parasitic burden in experimental *Schistosomiasis mansoni*. *Microbes and Infection*. 2023;25(7):105145. DOI: 10.1016/j.micinf.2023.105145.
 8. Rehman L., Ullah R., Rehman A., Khan M.A.H., Beg M.A., Wasim S. et al. Clinostomum complanatum: Anthelmintic potential of curcumin on the infective progenetic metacercarial stage. *Experimental Parasitology*. 2023;249:108514. DOI: 10.1016/j.exppara.2023.108514.
 9. Aslantürk Ö.S. *In vitro* cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. *Genotoxicity-A Predictable Risk to Our Actual World*. 2018;64–80. DOI: 10.5772/intechopen.71923.
 10. Mourão M.M., Dinguirard N., Franco G.R., Yoshino T.P. Role of the endogenous antioxidant system in the protection of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts against exogenous oxidative stress. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2009;3(11):e550. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000550.
 11. Moné Y., Mitta G., Duval D., Gourbal B.E. Effect of amphotericin B on the infection success of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*. 2019;125(2):70–75. DOI: 10.1016/j.exppara.2009.12.024.
 12. De Paula R.G., de Magalhães Ornelas A.M., Morais E.R., de Souza Gomes M., de Paula Aguiar D. et al. Proteasome stress responses in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*. 2015;114:1747–1760. DOI: 10.1007/s00436-015-4360-z.
 13. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Васильев А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012:944.
 14. Pakharukova M.Y., Shilov A.G., Pirozhkova D.S., Katokhin A.V., Mordvinov V.A. The first comprehensive study of praziquantel effects *in vivo* and *in vitro* on European liver fluke *Opisthorchis felinus* (Trematoda). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2015;46(1):94–100. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.02.012.
 15. Wong Y., Pearson M.S., Fedorova O., Ivanov V., Khmelevskaya E., Tedla B. et al. Secreted and surface proteome and transcriptome of *Opisthorchis felinus*. *Frontiers in Parasitology*. 2023;1195457. DOI: 10.3389/fpara.2023.1195457.
 16. Olson B.J., Markwell J. Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Pharmacology*. 2007;38(1):A–3A. DOI: 10.1002/0471140864.ps0304s48.
 17. Marcos L., Maco V., Terashima A. Triclabendazole for the treatment of human fascioliasis and the threat of treatment failures. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2021;19(7):817–823.
 18. Olliaro P., Delgado-Romero P., Keiser J. The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69(4):863–870. DOI: 10.1093/jac/dkt491.
 19. Oliveira M.F., d’Avila J.C., Tempone A.J., Soares J.B., Rumjanek F.D., Ferreira-Pereira A. et al. Inhibition of heme aggregation by chloroquine reduces *Schistosoma mansoni* infection. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;190(4):843–852. DOI: 10.1086/422759.
 20. Ghasemi M., Turnbull T., Sebastian S., Kempson I. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(23):12827. DOI: 10.3390/ijms222312827.
 21. Stockert J.C., Horobin R.W., Colombo L.L., Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochemica*. 2018;120(3):159–167. DOI: 10.1016/j.acthis.2018.02.005.
 22. Stone V., Johnston H., Schins R.P. Development of *in vitro* systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Critical Reviews in Toxicology*. 2009;39(7):613–626. DOI: 10.1080/10408440903120975.
 23. Keiser J., Manneck T., Vargas M. Interactions of mefloquine with praziquantel in the *Schistosoma mansoni* mouse model and *in vitro*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(8):1791–1797. DOI: 10.1093/jac/dkr178.

Вклад авторов

Перина Е.А. — анализ литературы, культивирование зрелых форм печеночного сосальщика, определение жизнеспособности *in vitro*. Буйко Е.Е. — анализ литературы, получение и интерпретация экспериментальных данных, написание текста статьи. Каминский И.П. — воспроизведение описторхозной инвазии. Собакин Д.С. — получение экспериментальных данных. Уфандеев А.А.,

Кайдаш О.А. – анализ литературы, написание текста статьи. Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Удут Е.В. – координация выполнения исследования, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

Перина Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, catherineperina@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-4273-8228>

Буйко Евгений Евгеньевич – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Каминский Илья Петрович – канд. фармацевт. наук, доцент, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, kaminskiy.ip@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4597-1743>

Собакин Данил Сергеевич – лаборант-исследователь, лаборатория трансляционной медицины, СибГМУ, г. Томск, sobakin.ds@ssmu.ru, <http://orcid.org/0009-0003-1920-2622>

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

Кайдаш Ольга Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kaidash_2011@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8761-7537>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, доцент, руководитель центра доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3326-729X>

Удут Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией, СибГМУ, г. Томск, udut.ev@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-61-4782>.

(✉) **Перина Екатерина Александровна**, catherineperina@gmail.com

Поступила в редакцию 24.09.2024;
одобрена после рецензирования 03.10.2024;
принята к публикации 04.10.2024

УДК 614.46:616.98:578.834.1]-036.21-02:613
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-120-128>

Влияние противоэпидемических (карантинных) мероприятий в условиях пандемии COVID-19 на население: выявление ключевых тематик с помощью социально-сетевого анализа

Плешкова Е.К.^{1,2}, Резанова З.И.¹

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

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

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучение реакции общества на введение карантинных мер по данным лично-стно ориентированного дискурса.

Материалы и методы. Произведен сбор текстовых данных на платформе микроблогов. Датасет состоял из 86 750 текстов, объединенных тематикой «пандемия», «карантинные меры». Проведен анализ лексической концептуализации пандемии и карантинных мер в лично-стно ориентированном дискурсе, репрезентиро-ванной в собранных текстах. Выполнена лемматизация на основе библиотеки Snowball, построена матрица datafeature matrix на основе лемматизированных токенов, включавшая 53 токена, частотность употре-бления которых превышала 1 300 раз. Методом социального-сетевого анализа построена сеть соп-риутствия ключевых лексем, состоящая из неориентированных графов. Анализ был выполнен в свободном программ-ном обеспечении R версии 4.4.1 с использованием библиотеки Quanteda, встроенных пакетов base и функ-ции gsub.

Результаты. Получена сеть из 53 ключевых лексем, с помощью которых акторы лично-стно ориентиро-ванного дискурса реагировали на карантинные мероприятия. Ядро сети – узел «коронавирус» употреблено 79 838 раз в период с 1 марта по 30 апреля 2020 г. Ближайшие узлы: «тест» (употреблено 4 663 раза) и «Рос-сия» (употреблено 5 848 раз). Сеть имеет высокую центральность, центральный узел сети «коронавирус» свидетельствует о том, что, несмотря на введение жестких ограничительных мер, население фокусиро-валось не на введенных ограничениях, а непосредственно на пандемии и ее влиянии на жизнедеятельность общества.

Заключение. Введение противоэпидемических мероприятий сформировало уникальную социолингвисти-ческую картину мира, отражающую взаимодействие общества с внешним миром в условиях неопределен-ности и риска здоровью, влияющую на анализ информации и выбор поведенческой стратегии обществом.

Ключевые слова: коронавирус, лично-стно ориентированный дискурс, обработка естественного языка, со-циально-сетевой анализ, социолингвистическая картина мира

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 (проект № 23-28-01001).

Для цитирования: Плешкова Е.К., Резанова З.И. Влияние противоэпидемических (карантинных) меро-приятий в условиях пандемии COVID-19 на население: выявление ключевых тематик с помощью соци-ально-сетевого анализа. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):120–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-120-128>.

Effects of anti-epidemic (quarantine) measures on people during the COVID-19 pandemic: applying social network analysis to identify the key topics

Pleshkova E.K.^{1,2}, Rezanova Z.I.¹

¹ National Research Tomsk State University" (NR TSU)
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the public reaction to the implementation of quarantine measures through a personality-oriented discourse.

Materials and methods. Text data were collected from a microblogging platform, resulting in a dataset of 86,750 texts related to the topics of "pandemic" and "quarantine measures". The lexical conceptualization of the pandemic and quarantine measures represented in the texts was analyzed through the lens of a personality-oriented discourse. Text lemmatization was conducted using the "snowball" library. A data feature matrix was then created based on the lemmatized tokens, which included 53 tokens with a frequency of use exceeding 1,300 times. The Social Network Analysis (SNA) method was used to create a keyword co-occurrence network consisting of undirected graphs. This analysis was performed using the free software R version 4.4.1, with the assistance of the Quanteda library, built-in "base" packages, and the gsub function.

Results. The resulting network consisted of 53 key lexemes, which actors used to respond to quarantine measures in the personality-oriented discourse. The central node of the network was "coronavirus", which was used 79,838 times between March 1 and April 30, 2020. The nearest nodes were "test" (used 4,663 times) and "Russia" (used 5,848 times). This network had high centrality, indicating that despite strict restrictive measures, the focus of the general public was on the pandemic itself and its impact on society rather than on the restrictions imposed.

Conclusion. The implementation of these anti-epidemic measures has created a unique sociolinguistic world view, reflecting the interaction between society and the outside world in a time of uncertainty and health risks, affecting the analysis of information and the behavioral strategies chosen by society.

Keywords: coronavirus, personality-oriented discourse, natural language processing, social network analysis, sociolinguistic world view

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

Source of financing. The research was funded by the Russian Science Foundation grant (Project No. 23-28-01001).

For citation: Pleshkova E.K., Rezanova Z.I. Effects of anti-epidemic (quarantine) measures on people during the Covid-19 pandemic: applying social network analysis to identify the key topics. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):120–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-120-128>.

ВВЕДЕНИЕ

С наступлением новой эпохи приходят и новые трудности. На смену привычному, как многим казалось, предсказуемому и упорядоченному миру пришел изменчивый и неожиданный VUCA-мир, который сменился BANI-миром: хрупким, тревожным, нелинейным и непостижимым [1]. В аббревиатуре BANI (brittle, anxious, non-linear, incomprehensible) за каждой буквой стоит определение нового мира.

Она появилась в 2020 г., когда общество столкнулось с пандемией, принесшей кардинальные перемены и запустившей трансформационные процессы, которые затронули все сферы жизнедеятельности общества. Изучение пандемии новой коронавирусной инфекции представляет интерес не только для исследователей, работающих в области медицины, биомедицины или экономики, это также огромное исследовательское поле для лингвистов и филологов. Необходимо понять, как пандемия трансфор-

мировала не только общество, но и язык как форму существования сознания общества [2].

В данной статье мы рассмотрим то, как общество отвечало на введение карантинных мероприятий в период пандемии новой коронавирусной инфекции по данным личностно ориентированного дискурса, поскольку именно в нем функционируют тексты, иллюстрирующие и формирующие общественное мнение [3]. Повышение эффективности таких исследований в последние годы обеспечивается применением к объемным корпусам текстов технологий обработки естественного языка (NLP) и компьютерной лингвистики, искусственного интеллекта, социально-сетевого анализа (SNA), что позволяет стандартизировать данные, выраженные в текстах. При этом в фокусе исследовательских интересов находятся прежде всего социальные сети, среди которых, до недавнего времени, ведущее положение занимала платформа микроблогов «X» (ранее «Твиттер», запрещена на территории РФ). Используя сочетание методов математического анализа и социолингвистического анализа текстов при изучении социальных сетей и их построении, ученые могут анализировать такие явления, как распространение болезней, рост протестных движений в обществе, социальное неравенство, влияние социальных сетей на молодежные сообщества и многое другое [4]. Так, например, в работе J. Wang и соавт. были отмечены примеры обращения к социальным сетям для выявления того, как интерпретируются влияния негативной динамики температур, локального загрязнения воздуха, стихийных бедствий на человека [5].

Изучая пандемию с точки зрения ее проявления в языке, представляется важным рассмотреть отдельные периоды ее развития, в частности введение карантинных мер и активный ответ общества на них. Карантинные меры, введенные в марте 2020 г. в Российской Федерации, исследователи интерпретируют как крупнейший психологический или психосоциальный эксперимент, изучение которого продолжится еще очень долго в социальных науках с использованием различных методов [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

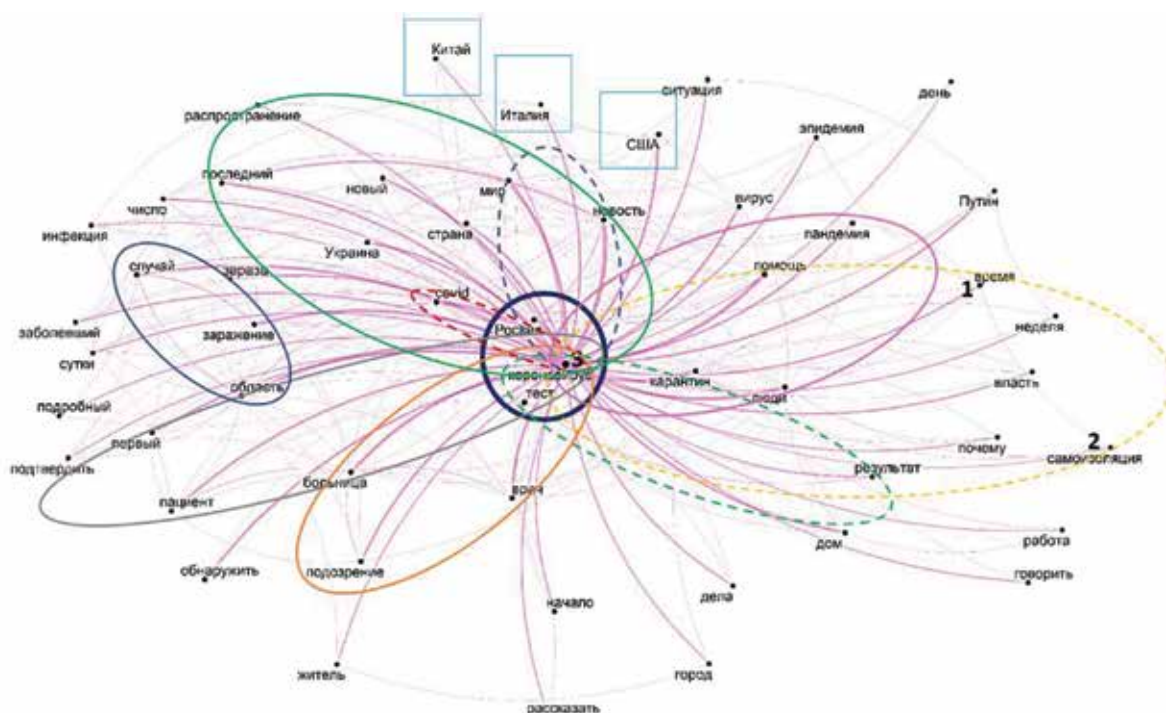
Анализ социальных сетей (social network analysis, SNA) – это метод исследования различных структур и взаимосвязей, основанный на применении теории графов, используемый для визуализации и анализа отношений и связей между организациями или отдельными лицами в сети [7]. Исследуемая сеть может быть представлена любыми данными, поскольку метод позволяет анализировать не

только взаимосвязи между акторами в каком-либо сообществе, но и связи между событиями, объединенными определенной тематикой [8], связи между научными публикациями, формирующими научно-исследовательских ландшафт конкретной организации [9], а также связи между лексическими единицами, функционирующими в различных видах дискурса [10]. Социально-сетевой анализ можно интерпретировать как картографирование отношений между различными субъектами. Результатом является визуальное (графическое) представление того, как каждый субъект взаимодействует с другими, что позволяет увидеть и изучить модели взаимодействия субъектов друг с другом, а также оценить, насколько сильная или слабая связь есть между субъектами сети.

Анализ был выполнен в свободном программном обеспечении версии 4.4.1 с использованием библиотеки Quanteda [11], а также встроенных пакетов base и функции gsub – «замена участков строк». Был проведен анализ лексической концептуализации пандемии и карантинных мер в личностно ориентированном дискурсе, репрезентированном в текстах. На первом этапе был произведен сбор текстовых данных, для формирования датасета были привлечены тексты платформы микроблогов «X».

Датасет, собранный на данной платформе, состоит из 86 750 твитов (коротких текстов), объединенных тематиками «пандемия» и «карантинные меры». В датасет вошли тексты, размещенные период с 1 марта по 30 апреля 2020 г. В ходе подготовительного этапа были удалены гиперссылки, хештеги, юзертеги, удалены знаки препинания и цифры. На основе датасета был сформирован корпус текстов, который впоследствии был токенизирован. Из корпуса были удалены стоп-слова, выполнена лемматизация на основе библиотеки Snowball, далее на основе лемматизированных токенов построена матрица datafeature matrix. В матрице были оставлены только те токены, частотность употребления которых превышала 1 300 раз; таким образом осталась матрица из 53 токенов. Далее построена матрица совместных употреблений, в нее были включены наиболее часто встречающиеся слова в текстах, объединенных тематикой пандемии и введения карантинных мер. На основе матрицы была построена сеть (feature co-occurrence matrix) с использованием функции textplot_network. На следующем этапе для изучения того, каким образом информация о введении карантинных мер распространялась и функционировала в личностно ориентированном дискурсе, были использованы методы социально-сетевого анализа.

ных мер в период с 1 марта по 30 апреля 2020 г. Это одноподобная сеть с высокой центральностью, узлами (вершинами) которых являются наиболее часто употребляемые лексемы, объединенные тематикой пандемии и карантинных мер. Ребра графов отражают связи указанных лексем – чем больше вес ребра графа, тем выше связь между узлами, а следовательно, наиболее часто данные лексемы употреблялись в месте, образуя смысловое единство.



навирусной инфекцией, как следствие, обсуждали тесты на выявление коронавирусной инфекции («Сегодня тест на коронавирус может сдать любой желающий, даже при отсутствии симптомов», «Какие существуют экспресс-тесты на COVID-19?» и т.д.).

Стоит обратить внимание, что в российском сегменте платформы микроблогов «X» превалировало употребление именно русскоязычного названия вируса, наименование covid встречалось несколько реже, всего 3 970 раз, в сравнении с 79 838 употреблениями лексемы «коронавирус». Часто лексема covid употреблялась совместно с лексемой «коронавирус», мы можем видеть это на графике (см. рис.) в области, выделенной красным эллипсом со штриховой линией. Граф с узлами covid и «коронавирус», соединенный ребром высоким весом, подтверждает наличие частого совместного употребления в тек-

стах, посвященных пандемии и карантинным мерам. Высокий вес ребра и небольшое геодезическое расстояние между узлами также указывают на достаточно частое совместное употребление данных лексических единиц. Чаще всего совместное употребление лексем «коронавирус» и covid имеет место в качестве текста твита и хештега (Да, народ ходит в масках, но китайцы даже без короновируса на моей памяти всегда ходили в масках из-за воздуха #covid #coronavirus). Примечательно, что, несмотря на деструктивный характер ограничительных мер, общество все же фокусировалось на обсуждении первоисточника проблемы – нового вируса, отдавая ему преобладающую роль в своих дискуссиях, погруженных в личностно ориентированный дискурс.

Кластер лексем, визуализированный с помощью графа с узлами «мир» (3 154 употребления), «новость» (3 179 употреблений) и «коронавирус», выделенный синим эллипсом со штриховой линией, может свидетельствовать о том, что в своих текстах аудитория российского сегмента платформы «Х» обсуждала информацию, получаемую из новостей – как из российских СМИ, так и из зарубежных (узел «мир»). Это подтверждает наблюдения зарубежных и российских исследователей о том, что основным источником информации о пандемии, новой коронавирусной инфекции и карантинных мероприятиях, является медиадискурс [5, 12, 13]. Проследив такую связь, можно говорить о том, что общество получает ту информацию, которая вращается в медиадискурсе, минуя, например, деловой дискурс, способный предоставить более объективную информацию (распоряжения, постановления, законы и т.д.). Такое предположение визуально может подтвердить ребро графа, соединяющее узлы «коронавирус» и «новость» – высокий вес ребра говорит о высокой степени связности, а значит высокой степени совместного употребления данных лексем. Это может быть одной из причин нарастающей инфодемии в личностно ориентированном дискурсе, поскольку медиадискурс закономерно представлен не только объективной информацией.

Интересное визуальное представление получил, казалось бы, один из самых обсуждаемых вопросов в период локдауна, который закономерно должен был сформировать смысловое единство с высокой частотностью совместных употреблений – «коронавирус» + «тест» + «результат». Полученная сеть содержит данный граф, узлами которого выступают лексемы «коронавирус» (79 383 употребления), «тест» (4 663), «результат» (около 1 300 употреблений). Тем не менее узлы «тест» и «результат» связаны ребром с очень низким весом. Это свидетель-

ствует, что люди в своих микроблогах практически не употребляли совместно данные лексемы, гораздо чаще совместно употреблялись лексемы «тест» (высокий вес соединяющего ребра, маленькое геодезическое расстояние) + «коронавирус» и «результат» (вес ребра меньше, чем у ребра, соединяющего узлы «тест» и «коронавирус», но больше, чем у ребра, соединяющего узлы «результат» и «тест», геодезическое расстояние между узлами большое).

Планируя исследование отражения локдауна в личностно ориентированном дискурсе, мы предполагали, что встретим в числе наиболее часто употребляемых такие лексические единицы, как «ограничения», «самоизоляция», образующие большое количество сочетаний (смысловых единств). Тем не менее в нашей сети, включающей 53 наиболее часто встречающиеся лексемы, нет узла «ограничения». В сети есть узел «самоизоляция», однако он расположен на периферии сети, на большом геодезическом расстоянии от ядра сети (узла «коронавирус»). Таким образом, можно говорить о том, что данная лексическая единица нечасто встречалась в текстах, объединенных тематикой локадауна. Кроме того, узел «самоизоляция» ($\geq 1\,300$ употреблений) является частью графа, состоящего из узлов «коронавирус», «время» ($\geq 1\,300$ употреблений) и «самоизоляция» – граф выделен эллипсом желтого цвета с пунктирной линией, узлы отмечены цифрами «время» – 1, «самоизоляция» – 2, «коронавирус» – 3. Узлы «время» и «самоизоляция» связывают ребро с очень маленьким весом, также их разделяет достаточно большое геодезическое расстояние. Это может свидетельствовать о том, что данные лексические единицы совместно употреблялись редко. Следует отметить, что узлы «время» и «коронавирус», «самоизоляция» и «коронавирус» также имеют низкую степень связанности (узлы соединены ребрами с малым весом и удалены друг от друга).

Граф, представленный узлами «коронавирус» (79 383 употребления), «помощь» (3 923 употреблений), «пандемия» (2 048 употреблений) и «люди» (3 556 употреблений), скорее всего, представляет обсуждение темы медицинской помощи, оказываемой обществу в период пандемии. Тема выявления новой коронавирусной инфекции среди населения посредством обращения в медицинские учреждения представлена кластером слов, сопresentствующих с узлом «коронавирус», который отражает развитие тематики пандемии новой коронавирусной инфекции и затрагивает сопряженные с ней социальные и демографические явления. Кластер выделен оранжевым эллипсом со сплошной линией, содержит лексемы «коронавирус» (79 383 употребления), «подо-

зрение» (2 130), «больница» (2 762), «врач» (2 365 употреблений). Примечательно, что узлы «коронавирус» и «больница» связывает ребро большего веса, чем, например узлы «коронавирус» и «подозрение». Это свидетельствует о большей степени связности и подтверждает совместное употребление указанных ключевых лексем в лично-ориентированном дискурсе. Та же ситуация визуализируется и с узлами «коронавирус» и «врач». Таким образом, можно полагать, что чаще акторы лично-ориентированного дискурса обсуждали медицинское сообщество (узел «врач»), а также статистику по заболеваемости (совместное употребление «коронавирус» + «больница»), что позволяет выделять эти кластеры в полученной сети.

Примечательно, что часто обсуждаемой темой в лично-ориентированном дискурсе становилось начало пандемии, об этом свидетельствует наличие еще одного когерентного блока сопричастующих слов: «первый» + «пациент» + «коронавирус». Очевидно, что речь идет об обсуждении первых заболевших, визуально обсуждение сформировало граф с узлами «коронавирус» (79 383 употреблений), «первый» ($\geq 1\ 300$) и «пациент» (2 029 употреблений), на графике кластер выделен серым эллипсом со сплошной линией. Кроме того, стоит отметить, что в поле этого кластера также расположен узел «область» (3 127 употреблений). Данный узел входит в другой кластер, образуя смысловое единство с узлами: «случай» (2602 употреблений), «заражение» (2 418 употреблений). Однако его близость в сети к кластеру, отражающему отношение общества к началу пандемии, свидетельствует о том, что люди, получая информацию о первых выявленных случаях заражений, обращались к статистике своего региона. Совместное употребление ключевых лексем «область», «случай», «заражение», а также высокая частотность их упоминания за весь исследуемый период говорят о том, что люди активно интересовались и искали информацию о статистике заболеваемости в своем регионе, а также выражали собственное отношение к складывающейся ситуации посредством кратких текстовых сообщений. Данную гипотезу также подтверждает и то, что ключевые лексемы «заражение» и «случай» имеют не только высокую частоту упоминаний, но и образуют смысловое единство «случай заражения», также обладающее высокой частотой упоминаний – 596 (табл. 2) (Новые случаи заражения COVID-19 зарегистрированы в Костанайской области).

Кластер, включающий ключевые лексемы «новость», «последний» и «коронавирус», находящиеся на довольно большом геодезическом расстоянии

друг от друга, подтверждает, что участники лично-ориентированного дискурса, выражая собственное отношение к пандемии, а также введению ограничительных мер, опирались на информацию, полученную из новостей. Наличие этого кластера в сети, а также частота упоминаний ключевой лексики «новость» (число употреблений 3 879) и словосочетания «последние новости» (822 употребления), подтверждают тесную связь лично-ориентированного дискурса и медиадискурса. В период пандемии новой коронавирусной инфекции связь между этими дискурсами значительно возросла, поскольку общество искало все новые источники информации, необходимой для выбора корректной стратегии действий в условиях нарастающего риска для жизни и здоровья.

Лексемы «вирус» (2 245 употреблений) и «эпидемия» (2 248 употреблений) образовывали в сети неориентированные графы с ядерным узлом «коронавирус». Это может свидетельствовать о том, что акторы лично-ориентированного дискурса ожидаемо фокусировались на бытовых проблемах и ограничениях, которые принесла пандемия, не обсуждая явление пандемии как таковой. Отсутствие связей у узла «вирус» может говорить о тесной связи лично-ориентированного дискурса с медиадискурсом. Люди получали информацию из СМИ и выражали отношение к полученной информации, используя заданную в медиадискурсе терминологию («коронавирус», а не просто «вирус» или «заболевание»).

Узлы «Китай» ($\geq 1\ 300$ употреблений), «Италия» ($\geq 1\ 300$ употреблений) и «США» (2 182 употреблений) свидетельствуют о том, что пользователи российского сегмента платформы «X» учитывали мировые новости, формируя собственное отношение к пандемии новой коронавирусной инфекции, а также к введению локдауна, но в большей степени ориентировались на ситуацию на территории Российской Федерации. Это подтверждает удаленность узлов от ядра сети, а также то, что узлы связаны с другими ключевыми лексемами ребрами меньшего веса, демонстрирующими низкую степень связности ключевых лексем. Кроме того, меньшую заинтересованность в зарубежных сценариях развития пандемии подтверждает и частота упоминаний стран: «Китай» ($\geq 1\ 300$ употреблений), «Италия» ($\geq 1\ 300$) и «США» (2 182) в сравнении с ключевой лексемой «Россия» (5 848 употреблений), занимающей второе место по частоте употреблений после лексики «коронавирус».

Входящая центральность сети оценивается по числу входящих в узел связей, можно сказать, что центральность соответствует понятию «популярность».

Оценивая построенную сеть, можно говорить о том, что наиболее популярной темой, обсуждаемой в период введения карантинных мер, были не ограничения, а коронавирус, поскольку именно эта лексема представляет ядро сети с наибольшим числом входящих в него связей.

Для того чтобы оценить частотность употребления ключевых лексем, сформировавших сеть и продемонстрировавших основные темы, волновавшие население в период введения локдауна, была использована функция `datafeature matrix` в библиотеке `Quanteda`. Мы посчитали сумму употреблений ключевых лексем в столбцах `datafeature matrix`, каждая строка в которой – это отдельный твит (микроблог). Полученные результаты отражены в табл. 1.

Таблица 1

Числовое выражение узлов, расположенных в сети, демонстрирующей ключевые лексемы и их взаимодействие в личноно ориентированном дискурсе в период введения локдауна	
Лексема (узел)	Число употреблений (период 1 марта – 30 апреля 2020 г.)
коронавирус	79 838
Россия	5 848
тест	4 663
карантин	4 488
covid	3 970
помощь	3 923
новость	3 879
люди	3 556
мир	3 154
область	3 127
дом	2 864
больница	2 762
случай	2 602
новый	2 484
заражение	2 418
врач	2 365
вирус	2 245
Путин	2 207
США	2 182
подозрение	2 130
пандемия	2 048
пациент	2 029

Результаты, отраженные в табл. 1, подтверждают визуальное представление личноно ориентированного дискурса (см. рис.). Наиболее частотная лексема, на основе которой формировались все сочетания, выражавшие отношение населения к введению карантинных мер, а также к пандемии – это лексема «коронавирус». Второй по частотности употребления является лексема «Россия», поскольку для анализа была взята информация из русскоязычного сегмента социальной сети. Интересное наблюдение – лексема «пандемия» имеет один из самых низких по-

казателей частотности употребления. Можно предположить, что термин «пандемия» наиболее характерен для медиадискурса или делового дискурса, в котором отношение к пандемии выражало профессиональное медицинское сообщество, в то время как личноно ориентированный дискурс представлен лексемами, которые демонстрируют темы, волновавшие население в указанный период – «коронавирус», «Россия», «карантин», «тест» и т.д.

Таблица 2

Словосочетания с наиболее высокой частотностью употребления, включающие ключевые лексемы личноно ориентированного дискурса	
Словосочетание	Количество употреблений
тест на коронавирус	3 217
подозрение на коронавирус	1 883
обнаружен коронавирус	1 136
коронавирус в России	1 004
последние новости	822
заражение коронавирусом	711
коронавирусная инфекция	707
победить коронавирус	599
случай заражения	596
анализ на коронавирус	591
выявлен коронавирус	578
диагностирован коронавирус	566
пандемия коронавирусной инфекции	553
тестирование на коронавирус	550
распространение коронавируса	518
новости коронавируса	458

Кроме того, для того чтобы вычислить наиболее часто встречающиеся смысловые единства, при помощи функции `textstat_collocations` из библиотеки `Quanteda` были выделены первые 20 наиболее часто употребляемых словосочетаний, объединенных тематикой карантинных мероприятий, которые встречались в период с 1 марта по 30 апреля 2020 г. Результаты представлены в табл. 2. Анализ продемонстрировал ключевые темы, которые обсуждались в рамках личноно ориентированного дискурса в период введения локдауна с 1 марта по 30 апреля 2020 г., отраженные в качестве кластеров в полученной сети.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ демонстрирует, что тематика новой коронавирусной инфекции, а также введения противоэпидемических (карантинных) мероприятий состоит из ряда ключевых тем, связанных между собой, образующих визуально определяемые кластеры в построенной сети, имеющей высокую центральность и ядро – «коронавирус». Это подтверждает наличие когерентных связей между

текстами, объединенными периодом изучения 1 марта – 30 апреля 2020 г., в неинституциональном типе дискурса. Кроме того, полученная сеть указывает на интеграцию дискурсов, в рамках которых велось активное обсуждение введения карантинных мер на территории Российской Федерации. Население получало информацию о пандемии и карантинных мерах в медиадискурсе, представление населения о риске собственному здоровью и жизни заранее формировалось акторами медиадискурса, что часто порождало нарастание панических настроений в условиях как информационной перегрузки, так и в недостаточности информации. Ключевая лексема «коронавирус», формирующая ядро полученной сети, сочетает в себе обсуждение здоровья населения, статистики заболеваемости, уровня заболеваемости в отдельно взятых регионах, вопрос распространения заболеваемости, а также меры по сдерживанию распространения пандемии и меры помощи и поддержки населения в сложившейся ситуации. Анализ позволил установить, что ключевые лексемы, отражающие ключевые концепты (тематики), волновавшие население в период пандемии и введения карантинных мер, имеют социокультурную обусловленность и позволяют сформировать языковую картину мира в период пандемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование подтверждает наличие уникальной совокупности тематик, отражающих социолингвистическую картину мира, столкнувшегося с пандемией, сформировавшейся под влиянием введения противоэпидемических (карантинных) мероприятий. Выявленные тематики, представленные ключевыми лексемами, отражают не только отношение общества к пандемии и введению карантинных мер, но и то, как развивалось и менялось мнение населения относительно данного социального феномена, то, как население взаимодействовало с источниками информации, откуда получало информацию и что имело ключевое влияние на интерпретацию полученной информации. Рассматривая полученные результаты совместно с выводами, сделанными другими исследователями, изучающими пандемию с точки зрения социологии, философии и лингвистики, можно зафиксировать тренд на формирование уникального комплексного подхода к изучению влияния пандемии на население, в основе которого лежит изучение трансформации общества под влиянием пандемии, исследование реакций и поведенческих стратегий населения, сформированных в рамках институциональных и неинституциональных дискурсов. Уникальность проведенной работы заключается в интеграции математических и соци-

олингвистических методов исследования для изучения комплексного влияния пандемии и связанных с ней мер на население. Безусловно, проведенный анализ не позволяет получить целостной социолингвистической картины мира, отражающей отношение населения к пандемии и введению карантинных мер. Для этого необходимо дополнить существующий анализ фреймовым анализом и анализом тональности текстов, объединенных тематикой новой коронавирусной инфекции. Кроме того, интересным представляется сравнение репрезентации пандемии и введения карантинных мер в различных типах дискурса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wasserman S., Faust K. Social network analysis: methods and applications (Structural analysis in the social sciences, series number 8). Cambridge: Cambridge University Press, 1994. DOI: 10.1017/CBO9780511815478.
2. Маслова В.А. *Homo lingualis* в культуре. М.: Гнозис, 2007:320.
3. Zubkova Y. Discourse studies: new results (review of the book: Karasik V.I. Language plasticity of communication). Moscow: Gnosis; 2021:536. DOI: 10.18254/S294939000028978-4.
4. Carrington P.J., Scott J., Wasserman S. Models and methods in social network analysis. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. DOI: 10.1017/CBO9780511811395.
5. Wang J., Fan Y., Palacios J., Chai Yu., Guetta-Jeanrenaud N., Obradovich N. et al. Global evidence of expressed sentiment alterations during the COVID-19 pandemic. *Nature Human Behaviour*. 2022;3(6):349–358. DOI: 10.1038/s41562-022-01312-y.
6. Плешкова Е.К. Стратегии риск-коммуникации в социально-значимых дискурсах в период пандемии новой коронавирусной инфекции: социально-сетевой анализ. *Российский лингвистический бюллетень*. 2023;42(6). DOI: 10.18454/RULB.2023.42.8.
7. Barabási A.-L., Pósfai M. Network science. Cambridge: Cambridge University Press; 2016.
8. Borgatti S.P., Everett M.G., Johnson J.C. Analyzing social networks. SAGE Publications Ltd., 2018.
9. Басараб М.А., Глинская Е.В., Иванов И.П., Колесников А.В., Кузовлев В.И. Исследование структуры графа научного соавторства методами анализа социальных сетей. *Вопросы кибербезопасности*. 2017;1(19):31–36. DOI: 10.21681/2311-3456-2017-1-31-36.
10. Резанова З.И., Степаненко А.А. Дискурсивные варианты тематического моделирования пандемии Covid-19 (новостной медиадискурс VS социальные сети). *Вестник Томского государственного университета. Филология*. 2023;(86):84–101. DOI: 10.17223/19986645/86/6.
11. Benoit K., Watanabe K., Wang H., Nulty P., Obeng A., Müller S. et al. quanteda: An R package for the quantitative analysis of textual data. *Journal of Open Source Software*. 2018;30(3):774. DOI: 10.21105/joss.00774.
12. Chew C., Eysenbach G. Pandemics in the age of Twitter: content analysis of Tweets during the 2009 H1N1 outbreak.

PloS One. 2010;11(5). DOI: 10.1371/journal.pone.0014118.

13. Юрченко Н.И. Обзор статьи Jamais Cascio «Facing the

age of Chaos». *Новые психологические исследования*. 2023;4(11):131–139. DOI: 10.51217/npsyresearch_2023_03_04_08.

Информация об авторах

Плешкова Екатерина Константиновна – мл. науч. сотрудник, лаборатория лингвистической антропологии, НИ ТГУ; начальник управления международного развития, СибГМУ, г. Томск, pleshkova.ek@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9075-429X>

Резанова Зоя Ивановна – д-р филол. наук, профессор, профессор кафедры общей, компьютерной и когнитивной лингвистики, зам. зав. лабораторией антропологической лингвистики, НИ ТГУ, г. Томск, rezanovazi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0550-991X>

(✉) Плешкова Екатерина Константиновна, pleshkova.ek@ssmu.ru

Поступила в редакцию 23.09.2024;
одобрена после рецензирования 01.10.2024;
принята к публикации 04.10.2024

УДК 314.14:616-039.4-053"450*2018/2022"
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-129-135>

Анализ уровня и динамики заболеваемости (по обращаемости) возраст-ассоциированной патологией в 2018–2022 гг. (на примере муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга)

Сагинбаев У.Р., Ахмедов Т.А., Рукавишников С.А., Давыдова Е.П.

*Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр (АННО ВО НИЦ) «Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии»
Россия, 197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3*

РЕЗЮМЕ

Цель: изучить уровень и динамику заболеваемости (по обращаемости) возраст-ассоциированной патологией (ВАЗ) в 2018–2022 гг. на примере муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Исследование проведено на основе учетно-отчетной документации за период 2018–2022 гг. по основным учетно-статистическим возрастным группам (взрослое население (ВН), лица трудоспособного возраста (ТВ), лица старше трудоспособного возраста (СТВ)). Проводился анализ по наиболее распространенным ВАЗ (болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением; ишемическая болезнь сердца; сахарный диабет 2-го типа; старческая катаракта и глаукома). Оценка уровня заболеваемости осуществлялась как в целом по ВАЗ, так и по отдельным нозологиям.

Результаты. Многолетняя динамика заболеваемости возраст-ассоциированными заболеваниями характеризовалась восходящей тенденцией. У лиц ТВ темп прироста заболеваемости ВАЗ был более выражен по сравнению с аналогичным показателем в целом у обследованного населения (16,1 против 5,4%). Более того, в постковидном периоде наблюдалось повышение уровня заболеваемости рядом ВАЗ. Кроме того, обнаружена закономерная очередность в манифестации ВАЗ: болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением, – ишемическая болезнь сердца – сахарный диабет 2-го типа – старческая катаракта – глаукома.

Заключение. Динамика заболеваемости ВАЗ характеризуется восходящей тенденцией, особенно выраженной среди лиц ТВ. В постковидном периоде обнаружено более ускоренное развитие данной категории заболеваний. Для ВАЗ характерна очередность манифестации по мере увеличения возраста, что в перспективе позволит выработать более четкие подходы к профилактике, диагностике и лечению ВАЗ в зависимости от возраста пациента.

Ключевые слова: возраст-ассоциированные заболевания, старение, заболеваемость, постковидный период, очередность манифестации

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: Сагинбаев У.Р., Ахмедов Т.А., Рукавишников С.А., Давыдова Е.П. Анализ уровня и динамики заболеваемости (по обращаемости) возраст-ассоциированной патологией в 2018–2022 гг. (на примере муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга). *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):129–135. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-129-135>.

Analysis of the rate and changes in the incidence of age-related diseases (by medical care uptake) in 2018–2022 (through the example of a municipal hospital in Saint Petersburg)

Saginbaev U.R., Akhmedov T.A., Rukavishnikova S.A., Davydova E.P.

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology
3, Dinamo Av., Saint Petersburg, 197110, Russian Federation

ABSTRACT

The **aim** was to study the rate and changes in the incidence (by uptake) of age-related diseases (ARDs) in 2018–2022 through the example of a municipal hospital in Saint Petersburg.

Materials and methods. The study was carried out on the basis of records and reports for the period of 2018–2022 for the main statistical age groups (adult population (AP), working age population (WAP), persons over working age (POWA)). The incidence was analyzed for the most common ARDs (hypertensive diseases; coronary heart disease; type 2 diabetes mellitus; senile cataract, and glaucoma). The assessment of the incidence rate was carried out both for ARDs in general and for particular diseases.

Results. A long-term observation revealed that the incidence of ARDs has been increasing. In WAP, the rate of the increase in the incidence of ARDs was more pronounced compared to the same indicator in the general population surveyed (16.1 versus 5.4%). Moreover, in the post-COVID period, the incidence rate of a number of ARDs increased. In addition, a regular sequence was found in the manifestation of ARDs: hypertensive diseases, coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus, senile cataract, glaucoma.

Conclusion. The incidence rate of age-related diseases has been increasing, which is especially pronounced among WAP. In the post-COVID period, these diseases were found to develop much faster. ARDs are characterized by a sequence of manifestations as patients get older, which in the future will allow to develop clearer approaches to the prevention, diagnosis, and treatment of ARDs depending on the age of the patient.

Keywords: age-related diseases, aging, incidence, post-COVID period, sequence of manifestations

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

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

For citation: Saginbaev U.R., Akhmedov T.A., Rukavishnikova S.A., Davydova E.P. Analysis of the rate and changes in the incidence of age-related diseases (by medical care uptake) in 2018–2022 (through the example of a municipal hospital in Saint Petersburg). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):129–135. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-129-135>.

ВВЕДЕНИЕ

С возраста 25–30 лет начинает повышаться вероятность развития патологических процессов, ассоциированных со старением [1]. Современные исследователи отмечают, что старение в большинстве случаев происходит преждевременно, причем наибольшую медико-социальную и экономическую значимость играет преждевременное старение как триггер развития возраст-ассоциированной патологии [2].

Возраст-ассоциированные заболевания (ВАЗ) — гетерогенная группа патологий, вероятность развития которых повышается по мере старения организ-

ма и характеризуется следующими особенностями: преобладание хронических форм; полиморбидность; сокращение разнообразия нозологических форм; изменение патогенетических механизмов заболеваний и, как следствие, атипичное течение [3]. К наиболее типичным представителям ВАЗ относятся: болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением, сахарный диабет 2-го типа, сенильная катаракта, первичная открытоугольная глаукома, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, ряд злокачественных новообразований и др.

Атеросклероз считается одним из основных факторов, определяющих характер старения и его темп

[4]. Более того, существует мнение, что атеросклероз является широко распространенным возрастным изменением сердечно-сосудистой системы и одним из ведущих патогенетических звеньев для большинства ВАЗ. В свою очередь, атеросклероз тесно связан с артериальной гипертензией. Несомненно, раннее выявление данных патологических процессов способно снизить (либо отсрочить) вероятность развития других ВАЗ и повысить качество жизни лиц старшей возрастной группы [5]. Изучение закономерностей в очередности развития ВАЗ и их взаимосвязей с целью выработки стратегий по предупреждению и своевременной диагностике состояний, связанных с процессами старения, является перспективным направлением.

Цель исследования: изучить уровень и динамику заболеваемости (по обращаемости) возраст-ассоциированной патологией в 2018–2022 гг. на примере муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на основе учетно-отчетной документации крупной муниципальной поликлиники г. Санкт-Петербурга, обслуживающей взрослое население, за период 2018–2022 гг. Изучение эпидемиологических особенностей ВАЗ проводилось в аспекте различных возрастных учетно-статистических групп: взрослое население (ВН), население трудоспособного возраста (ТВ), население старше трудоспособного возраста (СТВ). В качестве материалов выступили данные из формы федерального статистического наблюдения № 12 «Сведения о числе заболеваний, зарегистрированных у пациентов, проживающих в районе обслуживания медицинской организации». В табл. 1 представлено количество прикрепленного населения как в целом, так и по отдельным возрастным группам за указанный период исследования.

Таблица 1

Прикрепленное население (количество человек) в целом и по отдельным возрастным группам в 2018–2022 гг.			
Год	ВН	ТВ	СТВ
2018	77 259	53 338	23 921
2019	78 361	57 413	20 948
2020	80 457	56 186	24 271
2021	82 748	58 173	24 575
2022	84 126	59 101	25 025

Проводился анализ заболеваемости по наиболее распространенным возраст-ассоциированным заболеваниям: I10-I15 «Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением» (ГБ), I20-I25

«Ишемическая болезнь сердца» (ИБС), E11 «Сахарный диабет 2-го типа» (СД2), N25 «Старческая катаракта» (СК), H40 «Глаукома» (ПОУГ). Оценка уровня и динамики заболеваемости осуществлялась как в целом по ВАЗ, так и по отдельным нозологиям.

Проведенное исследование представляет собой комплексное эпидемиологическое исследование с анализом временных рядов (применялся метод авторегрессии – скользящего среднего), включающее расчет уровня заболеваемости (Y_t), собственной ошибки (m), сглаженного показателя заболеваемости (методом скользящей средней), ранжирования и тенденции (Y_t ; расчет проводился методом наименьших квадратов). С целью описания тенденции проводилось вычисление показателя темпа прироста или снижения инцидентности ($T_{пр/сн}$), рассчитанное как процентное отношение абсолютного прироста или убыли к предыдущему уровню ряда. Статистическая обработка проводилась с применением пакета прикладных программ Statistics 20.0 и Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка многолетней динамики заболеваемости возраст-ассоциированными заболеваниями как среди всего взрослого населения, так и среди лиц ТВ продемонстрировала однозначную неблагоприятную восходящую тенденцию (рис. 1, 2). У лиц ТВ темп прироста заболеваемости ВАЗ был более выражен по сравнению с аналогичным показателем в целом у обследованного населения (16,1 против 5,4%).

Стоит отметить, что уровень заболеваемости в рассматриваемых возрастных группах характеризовался скачкообразным снижением в 2021 г. и существенным ростом в следующем 2022 г. Данное обстоятельство, вероятно, связано со снижением обращаемости населения за медицинской помощью во время пандемии COVID-19 в 2021 г. и, наоборот, «взрывом» количества обращений в более благоприятном (с точки зрения эпидемиологической обстановки) 2022 г. Кроме того, на рост заболеваемости возраст-ассоциированной патологией в 2022 г. могло повлиять инфицирование новой коронавирусной инфекцией. Ряд исследователей отмечают однозначное влияние COVID-19 на процессы ускоренного старения населения [6].

ВАЗ представляют собой гетерогенную группу патологий, вероятность развития которых повышается по мере старения организма. На рис. 3 и 4 представлена многолетняя динамика заболеваемости среди населения ТВ по следующим нозологиям: ГБ, ИБС, СД2, СК и ПОУГ. Установлено, что уровень заболеваемости практически всех рассмотренных нозологий (за исключением ПОУГ) характери-

зовался неблагоприятной восходящей тенденцией. Многолетняя динамика первичной заболеваемости ГБ характеризовалась темпом прироста на уровне 12,2%; для ИБС аналогичный показатель был равен 23,0%, для СД2 и СК – 25,3 и 9,3% соответственно. Для многолетней динамики заболеваемости ПОУГ была характерна незначительная нисходящая тенденция с темпом снижения –6,3%.

Проведен расчет соотношения уровня заболеваемости конкретной нозологией у обследованного населения в целом к аналогичному показателю лиц ТВ (табл. 2). Стоит отметить, что чем меньше данное со-

отношение, тем менее выражено отличие уровня заболеваемости между разными возрастными группами.

На рис. 5 показан уровень заболеваемости ГБ, ИБС, СД2, СК и ПОУГ у лиц разных возрастных групп в доковидный (2018 г.) и постковидный (2022 г.) периоды. Установлено, что уровень заболеваемости ГБ у лиц ТВ в постковидном периоде дошла до уровня заболеваемости лиц СТВ. Аналогичная картина была характерна для ИБС, СД2 и СК. В случае с ПОУГ, напротив, во всех рассмотренных возрастных категориях наблюдалось снижение уровня заболеваемости.

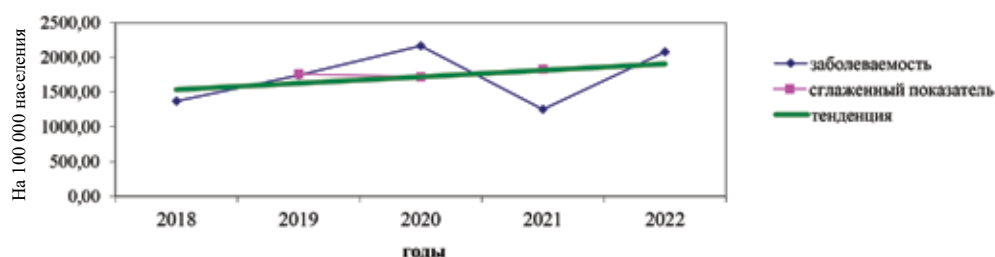


Рис. 1. Многолетняя динамика заболеваемости ВЗ всего взрослого населения в 2018–2022 гг.

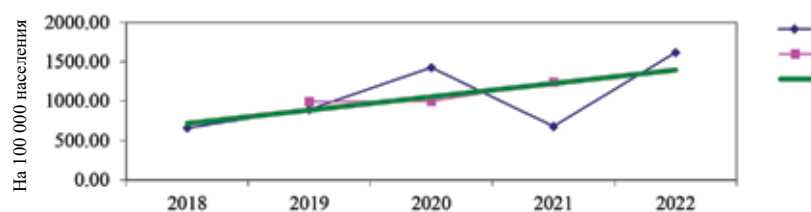


Рис. 2. Многолетняя динамика заболеваемости ВЗ среди населения ТВ в 2018–2022 гг.

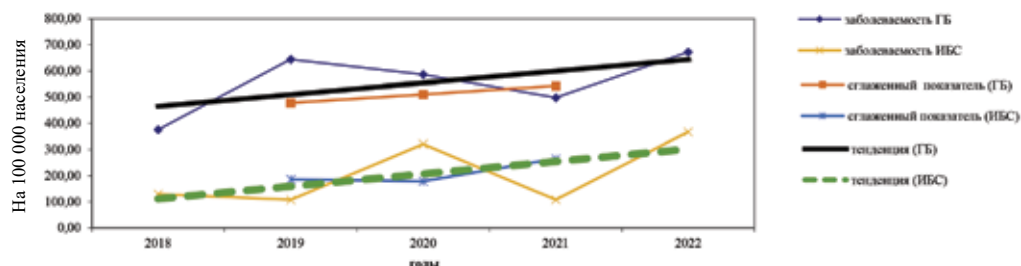


Рис. 3. Многолетняя динамика заболеваемости ГБ и ИБС среди населения ТВ в 2018–2022 гг.

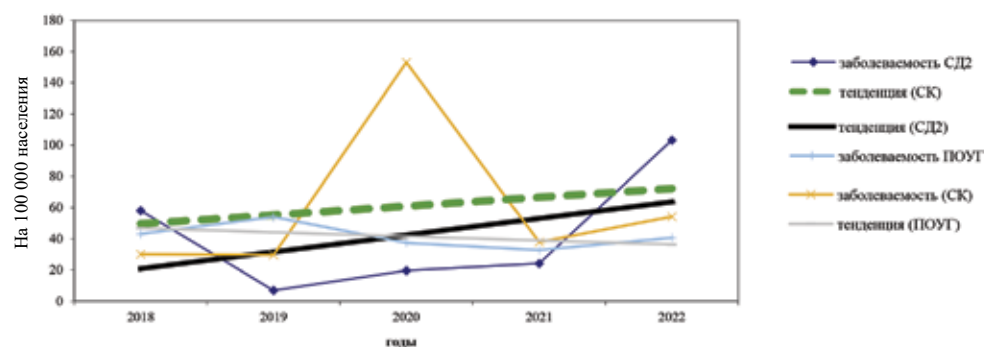


Рис. 4. Многолетняя динамика заболеваемости СД2, СК и ПОУГ среди населения ТВ в 2018–2022 гг.

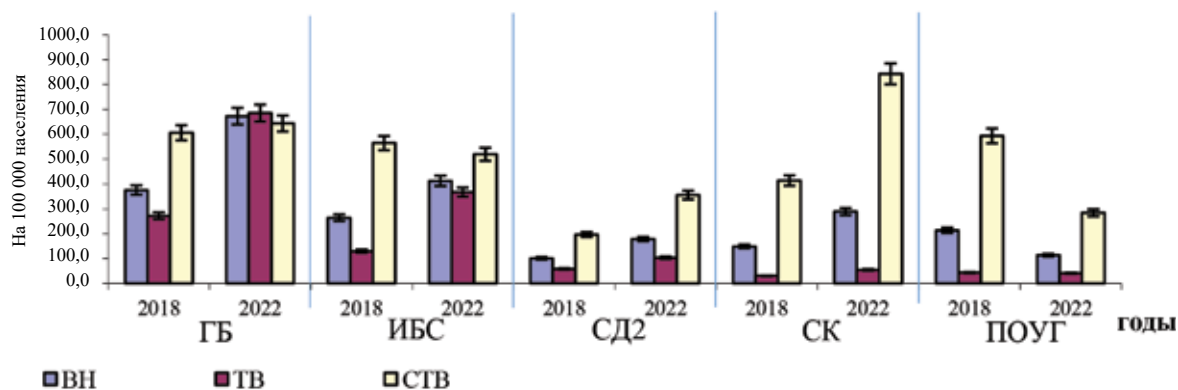


Рис. 5. Уровень заболеваемости отдельными ВАЗ в 2018 и 2022 гг.

Таблица 2

Уровень заболеваемости отдельными нозологиями группы ВАЗ среди разных возрастных групп в 2018–2022 гг.

Годы	ВН					ТВ					Соотношение Y_i (ВН) к Y_i (ТВ)				
	Y_i (ГБ)	Y_i (ИБС)	Y_i (СД2)	Y_i (СК)	Y_i (ПОУГ)	Y_i (ГБ)	Y_i (ИБС)	Y_i (СД2)	Y_i (СК)	Y_i (ПОУГ)	ГБ	ИБС	СД2	СК	ПОУГ
2018	375,4	264,1	101,0	148,9	213,6	271,9	129,4	58,1	30,0	43,1	1,4	2,0	1,7	5,0	5,0
2019	644,5	329,3	39,6	188,9	211,8	587	108,0	7	29,6	54,0	1,1	3,0	5,7	6,4	3,9
2020	586,7	377,8	37,3	637,6	149,2	574,9	320,4	19,6	153,1	37,4	1,0	1,2	1,9	4,2	4,0
2021	497,9	201,8	39,9	222,4	85,8	367,9	108,3	24,1	37,8	32,7	1,4	1,9	1,7	5,9	2,6
2022	672,8	412,5	178,3	288,9	112,9	685,3	367,2	103,2	54,1	40,6	1,0	1,1	1,7	5,3	2,8
Медиана	586,7	329,3	39,9	222,4	149,2	574,9	129,4	24,1	37,8	40,6	1,1	1,9	1,7	5,3	3,9
Тпр/сн	8,1	5,3	19,6	10,5	-1,37	12,2	23,0	25,3	9,3	-6,3	–	–	–	–	–

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное комплексное исследование продемонстрировало актуальность изучения группы заболеваний, связанных с возрастными процессами. Ранняя манифестация ВАЗ с клинической точки зрения тождественна ускоренному развитию процессов старения. Так, исследователями установлено, что резкий подъем заболеваемости инсулиннезависимым диабетом начинается в возрастной группе 50–54 лет [7].

Анализ заболеваемости (по обращаемости) ВАЗ продемонстрировал умеренный темп прироста у взрослого населения в целом и выраженный прирост у лиц ТВ. Обнаруженная закономерность соответствует картине «омоложения» заболеваний, связанных с возрастом. Аналогичная восходящая тенденция была обнаружена при оценке динамики распространенности сахарного диабета 2-го типа в Краснодарском крае за период 2007–2012 гг., со среднемноголетним уровнем общей заболеваемости 3093,7 случаев на 100 тыс. населения [8].

Согласно многолетним обсервационным исследованиям, заболеваемость артериальной гипертензией в нашей стране в среднем составляет 44% и продолжает неуклонно расти [9]. Медианный уровень первичной заболеваемости артериальной гипертензией,

полученный в нашем исследовании, несколько выше российского уровня (586,7 против 547,7), что согласуется с более высоким уровнем распространенности данной патологии в Северо-Западном федеральном округе (8129,5 случаев на 100 тыс. населения) по сравнению с российским показателем [10].

Оценка очередности развития патологии по «возрастному индексу заболеваемости» (соотношению уровней заболеваемости лиц СТВ к аналогичному показателю ВН) четко продемонстрировала более раннюю манифестацию ГБ по сравнению с инсулиннезависимым диабетом. Для оценки состоятельности данного индекса был проведен расчет аналогичного показателя для инцидентности по отдельным ВАЗ населения Российской Федерации по наиболее актуальным опубликованным данным официальной статистики [10–12]. Результаты расчета полностью подтвердили полученные нами данные и соответствовали следующей очередности манифестации возраст-ассоциированных заболеваний: ГБ – ИБС – СД2 – ПОУГ – СК (табл. 3). Кроме того, стоит отметить, что рассчитанный индекс прямо пропорционален степени связанности патологии со старшим возрастом: чем данный показатель выше, тем позднее манифестирует нозологическая единица. Указанный индекс может явиться одним из важных критериев отнесения патологии к группе ВАЗ,

учитывая, что принадлежность отдельных заболеваний к упомянутой группе подвергается определенным сомнениям [13].

Таблица 3

Соотношение уровней заболеваемости (Yi(СТВ) : Yi(ВН)) по отдельным ВАЗ в Российской Федерации в 2018 г.	
Нозология	Соотношение
ГБ	1,32
ИБС	1,73
СД2	1,82
ПОУГ	2,21
СК	2,27

Согласно полученным данным, среди рассмотренных ВАЗ на популяционном уровне наиболее рано развивается ГБ, затем следуют ИБС, СД2, ПОУГ и СК. Данная закономерность в перспективе позволит выработать стратегию скрининга преждевременного старения, основанную на прицельной ранней диагностике, – ГБ и ИБС у лиц более молодого возраста, а в более зрелом возрасте – СД2, ПОУГ и СК. Подобная «ступенчатая» концепция вторичной профилактики преждевременного старения обладает целым рядом преимуществ: более рациональное распределение временных, трудовых и материальных ресурсов; более прицельный диагностический скрининг повышает эффективность и результативность выявляемости за счет оптимальной мобилизации необходимого диагностического пособия.

Обнаружено повышение уровня заболеваемости по изучаемой группе патологий в постковидный период во всех возрастных группах. Как отмечалось выше, данное явление может быть связано как с влиянием новой коронавирусной инфекции на ускоренное развитие старения, так и с влиянием пандемии на активность обращения населения за медицинской помощью в поликлинику. Для более детального и всеобъемлющего изучения данного вопроса требуется рассмотреть уровень заболеваемости (по обращаемости) в постковидном периоде в динамике, а также проанализировать показатели заболеваемости по результатам медицинских осмотров (диспансеризации) в до- и постковидный периоды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровень заболеваемости возраст-ассоциированной патологией характеризуется продолжающейся восходящей тенденцией, особенно характерной для лиц трудоспособного возраста. Данная закономерность соответствует «омоложению» болезней, свя-

занных со старением. Кроме того, в постковидном периоде обнаружено более ускоренное развитие данной категории заболеваний. Выявленные закономерности позволят выработать более четкие подходы к профилактике, диагностике и лечению возраст-ассоциированных заболеваний как отдельной группы нозологий.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Прошаев К.И., Ильницкий А.Н., Жернакова Н.И. Основные гериатрические синдромы: учебное пособие. Белгород, 2012:228.
2. Xia S., Zhang X., Zheng S., Khanabdali R., Kalionis B., Wu J. al. An update on inflamm-aging: mechanisms, prevention and treatment. *Journal of Immunology Research*. 2016;8:1–12. DOI: 10.1155/2016/8426874.
3. Dartigues J.F., Bourdennec K.L., Tabue-Teguo M., Le Goff M., Helmer C., Avila-Funes J.A. et al. Co-occurrence of geriatric syndromes and diseases in the general population: assessment of the dimensions of aging. *The Journal of Nutrition, Health, Aging*. 2022;26(1):37–45. DOI: 10.1007/s12603-021-1722-3.
4. Samieri C., Perier M.C., Gaye B., Proust-Lima C., Helmer C., Dartigues J.F. et al. Association of cardiovascular health level in older age with cognitive decline and incident dementia. *JAMA*. 2018;320(7):657–664. DOI: 10.1001/jama.2018.11499.
5. Avila-Funes J.A., Pelletier A., Meillon C., Catheline G., Periot O., Trevino-Frenk I. et al. Vascular cerebral damage in frail older adults: the AMImage study. *The Journals of Gerontology*. 2017;72(7):971–977. DOI: 10.1093/gerona/glw347.
6. Guo X., Franco O.H., Laine J.E. Accelerated ageing in the COVID-19 pandemic: A dilemma for healthy ageing. *Maturitas*. 2022;157: 8–69. DOI: 10.1016/j.maturitas.2021.12.009.
7. Иваненко А.А., Ушакова О.В. Эпидемиология сахарного диабета 2 типа в г. Комсомольск-на-Амуре. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2011;3:30–32.
8. Басинская Л.А., Комаровских Е.Н., Сахнов С.Н., Заболотный А.Г. Распространенность сахарного диабета первого и второго типов в Краснодарском крае. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2013;50:126–129.
9. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Имаева А.Э., Капустина А.В., Муромцева Г.А. и др. Распространенность артериальной гипертензии, охват лечением и его эффективность в Российской Федерации (данные наблюдательного исследования ЭССЕ-РФ-2). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019;15(4):450–466. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-4-450-466.
10. Заболеваемость взрослого населения России в 2019 году. Статистические материалы. М.: Минздрав России, 2020:160.
11. Заболеваемость населения старше трудоспособного возраста по России в 2019 году. Статистические материалы. М.: Минздрав России, 2020:183.
12. Здравоохранение в России. 2019: статистический сборник. М.: Росстат, 2019:170.
13. Неудахин Е.В., Морено И.Г. К вопросу о патогенезе атеросклероза и коррекции атерогенных нарушений у детей. *РМЖ. Педиатрия*. 2018;9:62–68.

Информация об авторах

Сагинбаев Урал Ринатович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория возрастной клинической патологии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, ural-spb-sag@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9709-1882>

Ахмедов Тимур Артыкович – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория возрастной клинической патологии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, timaxm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3105-4322>; SPIN-код: 5333-0721;

Рукавишников Светлана Александровна – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория возрастной клинической патологии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, kdb2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3105-4322>

Давыдова Елена Петровна – науч. сотрудник, лаборатория возрастной клинической патологии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург, kephala@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2702-9394>

(✉) **Сагинбаев Урал Ринатович**, ural-spb-sag@mail.ru

Поступила в редакцию 27.10.2023;
одобрена после рецензирования 11.03.2024;
принята к публикации 14.05.2024

УДК 616.357:577.175.53:577.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144>

Исследование молекулярных взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с TRPM8 методом молекулярного докинга

Тимкин П.Д.¹, Котельников Д.Д.², Тимофеев Э.А.¹, Наумов Д.Е.³, Бородин Е.А.¹

¹ Амурская государственная медицинская академия (ГМА)
Россия, 675001, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Горького, 101

² Дальневосточный государственный аграрный университет (ГАУ)
Россия, 675000, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86

³ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675011, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Цель: осуществление *in silico* скрининга взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с TRPM8.

Материалы и методы. Информация о структуре лигандов была получена из базы данных химических соединений PubChem в sdf-формате. Модель белка TRPM8 загружена из базы данных AlphaFold Protein Structure Database (AlphaFold ID: AF-Q7Z2QW). Предсказание молекулярных полостей и координат их центров осуществлялось на веб-сервере PrankWeb. Моделирование молекулярного взаимодействия проводили с использованием двух программ: AutoDock (генерация 100 эпох) и МОЕ (генерация 300 поз).

Результаты. В ходе проведения исследования выяснилось, что лиганды образуют стабильные комплексы с TRPM8, но при этом все, кроме беклометазона дипропионата, не взаимодействуют с аминокислотным остатком Туг745 (ключевой сайт связывания для активации канала). Таким образом, можно полагать, что глюкокортикоиды, вероятнее всего, являются ингибиторами данного ионного канала. Из всех глюкокортикоидов особое внимание было уделено преднизолону, флунизолу и будесониду, так как результаты молекулярного докинга этих молекул с использованием AutoDock и МОЕ демонстрируют сопоставимые данные.

Заключение. Полученные результаты позволяют взглянуть на терапевтический потенциал данных препаратов в аспекте их использования при лечении холод-индуцированной гиперреактивности дыхательных путей, а также расширяют потенциал их персонализированного применения в терапии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.

Ключевые слова: TRPM8, молекулярный докинг, глюкокортикоиды, *in silico*

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: Тимкин П.Д., Котельников Д.Д., Тимофеев Э.А., Наумов Д.Е., Бородин Е.А. Исследование молекулярных взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с trpm8 методом молекулярного докинга. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):136–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144>.

Studying molecular interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8 by molecular docking

Timkin P.D.¹, Kotelnikov D.D.², Timofeev E.A.¹, Naumov D.E.³, Borodin E.A.¹

¹ Amur State Medical Academy
101, Gorkogo Str., Blagoveshchensk, 675001, Russian Federation

² Far Eastern State Agrarian University
86, Politekhnikeskaya Str., Blagoveshchensk, 675005, Russian Federation

³ Far Eastern Scientific Center for Physiology and Pathology of Respiration
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675011, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To carry out *in silico* screening of interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8.

Materials and methods. Information on the structure of the ligands was obtained from the PubChem chemical database in sdf format. The TRPM8 protein model was downloaded from the AlphaFold Protein Structure Database (AlphaFold ID: AF-Q7Z2QW). Prediction of molecular cavities and coordinates of their centers was carried out on the PrankWeb web server. Modeling of molecular interactions was carried out using AutoDock (generation of 100 epochs) and MOE (generation of 300 poses) software.

Results. The study revealed that the ligands formed stable complexes with TRPM8, but all of them, except for beclomethasone dipropionate, did not interact with the Tyr745 amino acid residue (the key binding site for channel activation). Thus, it can be assumed that glucocorticoids are most likely inhibitors of this ion channel. Of all glucocorticoids, special attention was paid to prednisolone, flunisolide, and budesonide, since the results of molecular docking of these molecules using AutoDock and MOE showed comparable data.

Conclusion. The results obtained provide an insight into the therapeutic potential of these drugs in terms of their use in the treatment of cold-induced airway hyperresponsiveness and also expand the potential for their personalized use in the treatment of bronchial asthma and COPD.

Keywords: TRPM8, molecular docking, glucocorticoids, *in silico*

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

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

For citation: Timkin P.D., Kotelnikov D.D., Timofeev E.A., Naumov D.E., Borodin E.A. Studying molecular interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8 by molecular docking. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):136–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144>.

ВВЕДЕНИЕ

TRPM8 представляет собой ионный канал, обеспечивающий ток ионов Ca^{2+} и Na^{+} в клетку. Данный канал является гомотетрамером, каждая субъединица которого содержит шесть трансмембранных доменов (S1–S6) [1].

Известно, что данный канал играет важную роль в ощущении холода. Активация канала происходит при определенных температурах (10–28 °C) или под воздействием химических агентов (например,

ментол, ицилин) [2–4]. Ввиду своего функционального назначения TRPM8 экспрессируются в субпопуляции первичных афферентных нейронов, которые иннервируют высокочувствительные к холоду ткани, включая кожу, эпителий полости рта, зубы, слизистую оболочку носа, язык и роговицу. Также имеются данные о наличии данного канала в эпителии легочной ткани и на лейкоцитах, в том числе не контактирующих с внешней средой, что подразумевает наличие эндогенных модуляторов активности TRPM8. Активность ионного канала сочетается с

транскрипционной регуляцией важных иммуномодулирующих агентов интерлейкинов IL-6 и IL-8, которые часто экспрессируются при воспалительном процессе в респираторном тракте [5].

Классическими препаратами для купирования бронхиальной астмы являются синтетические глюкокортикоиды (ГКС), которые обладают противовоспалительным действием. Основной механизм действия ГКС опосредуется через связывание с цитозольным глюкокортикоидным рецептором. После этого вновь образованный комплекс, подвергшийся димеризации, транслоцируется в ядро клетки, что приводит к регуляции экспрессии генов. Этот процесс обычно называют транскрипционной активацией, или трансактивацией [6, 7].

Обычно ГКС гормоны не связываются с ионными каналами семейства TRP, по крайней мере, отсутствуют экспериментальные данные, демонстрирующие это. Однако имеются доказательства модуляции рецепторов TRP некоторыми стероидными гормонами, такими как тестостерон, эстрадиол и андрогены [8]. В проведенных ранее нами исследованиях по поиску потенциальных лигандов к TRPM8 методами *in silico* с использованием нейронных сетей было обнаружено, что синтетический ГКС дексаметазон является кандидатом для взаимодействия с рецептором. Данные жесткого молекулярного докинга в области, близкой к аминокислотному остатку Tyr745, продемонстрировали гипотетическую возможность образования комплекса [9]. Остаток Tyr745 является наиболее важным в реализации функции TRPM8, так как в нативном состоянии именно с ним ментол образует водородную связь, приводящую к активации канала.

Все вышеперечисленные факты дают основания предполагать наличие альтернативного молекулярного пути реализации эффектов ГКС гормонов, опосредованного через взаимодействие с TRPM8.

В качестве модельных ГКС в данной работе были взяты: будесонид, преднизолон, флунизол, флутиказона пропионат, гидрокортизон, дексаметазон, беклометазона дипропионат, триамцинолона ацетонид как наиболее популярные синтетические ГКС, назначаемые для лечения хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астмы и аллергического ринита в клинической практике [10–16].

Учитывая перспективность подходов молекулярного докинга в изучении лекарственных препаратов, было принято решение сосредоточиться на подробном исследовании особенностей связывания глюкокортикостероидов с TRPM8 [17].

Целью данного исследования было проведение *in silico* моделирования методом молекулярного докин-

га взаимодействий представленных синтетических ГКС гормонов с ионным каналом TRPM8 и предположить возможность образования стабильных комплексов для определения потенциальных лигандов на роль агонистов или антагонистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Информация о структуре лигандов в sdf-формате была получена из базы данных химических соединений PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, дата доступа: 01.10.2023).

Используемая модель белка TRPM8 была загружена из базы данных AlphaFold Protein Structure Database (<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q7Z2W7>, дата доступа: 01.10.2023). Поскольку полноразмерная структура рецептора представляет собой гомотетрамер суммарным размером 4,5 тыс. аминокислотных остатков, с целью последующей структурной оптимизации белка и быстрого проведения молекулярного докинга использовалась только одна субъединица (PDB: AF-Q7Z2QW) в pdb-формате.

Моделирование межмолекулярных взаимодействий проводилось с использованием двух различных программ: AutoDock 4.2, в принципе работы которого лежит поиск локального минимума энергии методом генетического алгоритма, и MOE 2022.02 (Molecular Operating Environment) [18], представляющая собой комплексное программное обеспечение, состоящее из различных модулей и позволяющее проводить полноценное исследование в области компьютерного дизайна лекарств любой сложности без использования сторонних сервисов.

Для предсказания потенциальных молекулярных полостей и координат их центров использовался веб-сервер PrankWeb (<https://prankweb.cz/>, дата доступа: 01.10.2023) [19–21]. Данные координаты использовались для корректной ориентации Grid Box (трехмерная решетка, в пределах которой происходит поиск и анализ взаимодействий между лигандами и белковыми целями). Непосредственно метод моделирования межмолекулярных взаимодействий с последующим расчетом сродства ГКС к TRPM8 осуществляется путем жесткого докинга, т. е. без изменения конформаций боковых цепей аминокислотных остатков в молекулярной полости и самого лиганда. Докинг проходил по стандартному алгоритму с генерацией в 100 эпох.

Первым этапом перед молекулярным докингом стала: загрузка белка-мишени в рабочее поле MGLTools, удаление молекул воды и коррекция степени протонирования (добавление полярных атомов водорода) к белковой цепи в местах потенциальных связей с лигандами. Далее добавляется

лиганд в pdbqt-формате. Второй этап заключается в наложении пространственной сетки (Grid Box) по координатам и размерам, полученным в PrankWeb. В работе использовался Grid Box размером: $40 \times 40 \times 40$ с интервалом $0,375 \text{ \AA}$ (размер и интервал – по умолчанию). Третий этап заключался в поиске возможных конформаций белок-лигандного комплекса, т. е. в проведении самого докинга. После осуществления докинга создается dlg-файл с подробной информацией об образованных комплексах (координаты расположения комплекса, энергия связывания, среднеквадратичное отклонение положений атомов RMSD (root mean square deviation) и др.). Заключительным этапом является анализ и интерпретация полученных данных [22].

Программный конвейер исследования в МОЕ заключался в следующем. Первым этапом осуществлялся импорт скачанного белка в pdb-формате, лигандов – в sdf-формате; для удобства каждое исследование проводилось отдельно. При помощи параметров, заданных по умолчанию в модуле QuickPrep, осуществлялась первичная оптимизация белка, заключающаяся в его протонировании и коррекции структурных ошибок (например, разрывов). Далее происходило наложение частичных зарядов в модуле Partial charges. Финальным этапом структурной оптимизации было осуществление минимизации энергии белка в модуле Energy minimization, протокол General. Параметры протокола сохранены по умолчанию: forcefields – наследуются из настроек силовых полей (описано далее), cell – no periodicity, constraints – выбрана опция rigid water molecules, gradient – $0,1 \text{ RMS ккал/моль/\AA}^2$. Для параметризации атомов, ковалентных и нековалентных взаимодействий использовалось силовое поле Amber14:EHT¹, поведение растворителя (вода) было смоделировано обобщенным методом Борна (Generalized Born).

Перед проведением непосредственно молекулярного докинга был осуществлен поиск сайта связывания с использованием модуля Site Finder со включенной опцией Solvent. В эксперименте был использован 3-й найденный сайт связывания, содержащий Tyr745 – критически важную аминокислоту, необходимую для активации канала. Были выбраны опции Select Contact Atoms (выделяет атомы на расстоянии $4,5 \text{ \AA}$) и Select Residues in SE (выделяет только остатки, входящие в сайт связывания) и выполнена опция Dummies для наложения «фиктивных атомов», присваивающая элемент LP гидрофобным

атомам и LPA – гидрофильным, т. е. имеющим свободную пару электронов, а также оптимизирующая температурный фактор атома.

Молекулярный докинг осуществлялся по протоколу General. В качестве рецептора была выбрана опция Receptor and Solvent Atoms, сайт связывания – Dummies, лиганд – загруженная молекула лиганда (Ligand Atoms). Параметры генерации были следующие: Placement – Triangle Matcher (Method), Affinity dG (Score), 300 Poses; Refinement – Induced fit (Method), GBVI/WSA dG (Score), 1 Pose.

Подробное описание используемых алгоритмов генерации конформаций и расчета энергии до и после структурной оптимизации в данной статье не приводится. В качестве результата докинга извлекалась наиболее стабильная конформация, обладающая наименьшей энергией связывания.

Для проведения сравнительного анализа между полученными конформациями лигандов в AutoDock 4.2 и МОЕ проводился расчет RMSD в веб-сервисе LigRMSD (<https://ligrmsd.appsbio.italca.cl/>, Дата доступа: 01.10.2023) [23]. RMSD представляет собой меру среднего расстояния между атомами (основной цепи, без учета атомов H), наложенных друг на друга молекул. Данный параметр позволяет объективно оценить взаиморасположение лигандов, предсказанных разными методами. Исходя из литературных данных, пороговым значением RMSD выбрано $3 \text{ \AA}$ [24].

Некоторые полученные комплексы были визуализированы с использованием программного обеспечения для визуализации PyMol [25] и встроенного модуля Ligand Interactions для построения 2D-карт взаимодействий лигандов с аминокислотными остатками.

Основной задачей использования в работе алгоритмов AutoDock и МОЕ являлась оценка воспроизводимости результатов молекулярного докинга, проводимого двумя разными методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для работы протокола AutoDock и построения Gridbox были получены координаты восьми предполагаемых молекулярных полостей со значениями Probability score от 0,0003 (соответствует самому низкому качеству прогнозу) до 0,497 (для самого высокого качества прогноза). Была выбрана молекулярная полость с наивысшим значением Probability score ввиду наличия в составе остатка Tyr745. Также в данном кармане находится и другой важный оста-

¹ Данное силовое поле представляет собой объединение параметров силового поля Amber ff14SB для белков и нуклеиновых кислот и параметров расширенной теории Хюккеля (Extended Hueckel Theory) для простых органических соединений, реализованное в программном пакете МОЕ 2022.2.

ток Arg1008. Согласно прогнозу PrankWeb, молекулярная полость образована аминокислотными остатками под номерами: 738, 741, 742, 745, 777, 778, 781, 782, 785, 802, 839, 842, 845, 849, 1004, 1005, 1008, 1013, 1016. Представленные результаты в целом соответствуют литературным данным, за исключением отсутствия в аннотации кармана остатка Ala1009, которая, как и Arg1008, выполняет роль «стабилизатора» для нативного лиганда – ментола [26].

Из-за отсутствия четкого разграничения между сайтами связывания для агонистов и антагонистов, сложно выбрать для исследования одну молекулярную полость и делать окончательные выводы, основываясь только на *in silico* оценке взаимодействий [27]. Поэтому данное исследование носит скрининговый характер, т. е. нацелено на отбор потенциально подходящих лигандов для последующих экспериментов.

Были получены результаты молекулярного моделирования для каждого из ГКС (табл. 1). Для преднизолона, флунизотида, будесонида, беклометазона дипропионата и гидрокортизона разница минимальной энергии связывания, полученной разными программами, составила менее 1 ккал/моль, что без учета химических связей говорит о приблизительном сходстве результатов, полученных программами AutoDock и MOE, которую можно объяснить сходной оценочной функцией.

Таблица 1

Энергия связывания комплексов и RMSD полученных конформеров, ккал/моль			
Кортикостероид	AutoDock	MOE	RMSD (Å)
Преднизолон	-7,25	-7,76	0,83
Флунизотид	-7,76	-8,26	1,62
Будесонид	-8,65	-8,58	2,54
Дексаметазон	-9,35	-7,99	4,68
Флутиказона пропионат	-5,31	-7,93	6,64
Гидрокортизон	-7,65	-7,94	6,98
Триамцинолона ацетонид	-11,09	-7,92	42,77
Беклометазона дипропионат	-8,88	-8,76	43,04

Примечание. Ранжированы по RMSD, меньшее значение – лучше.

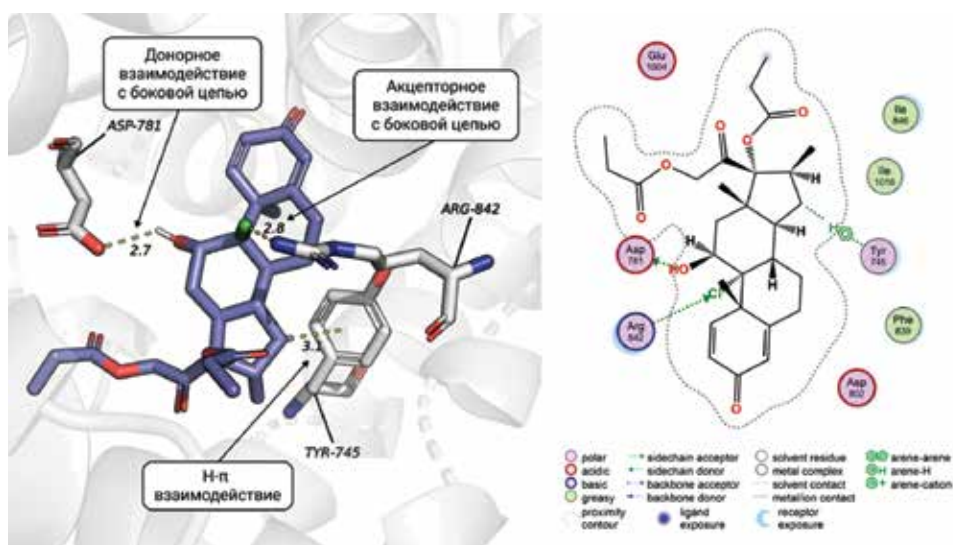
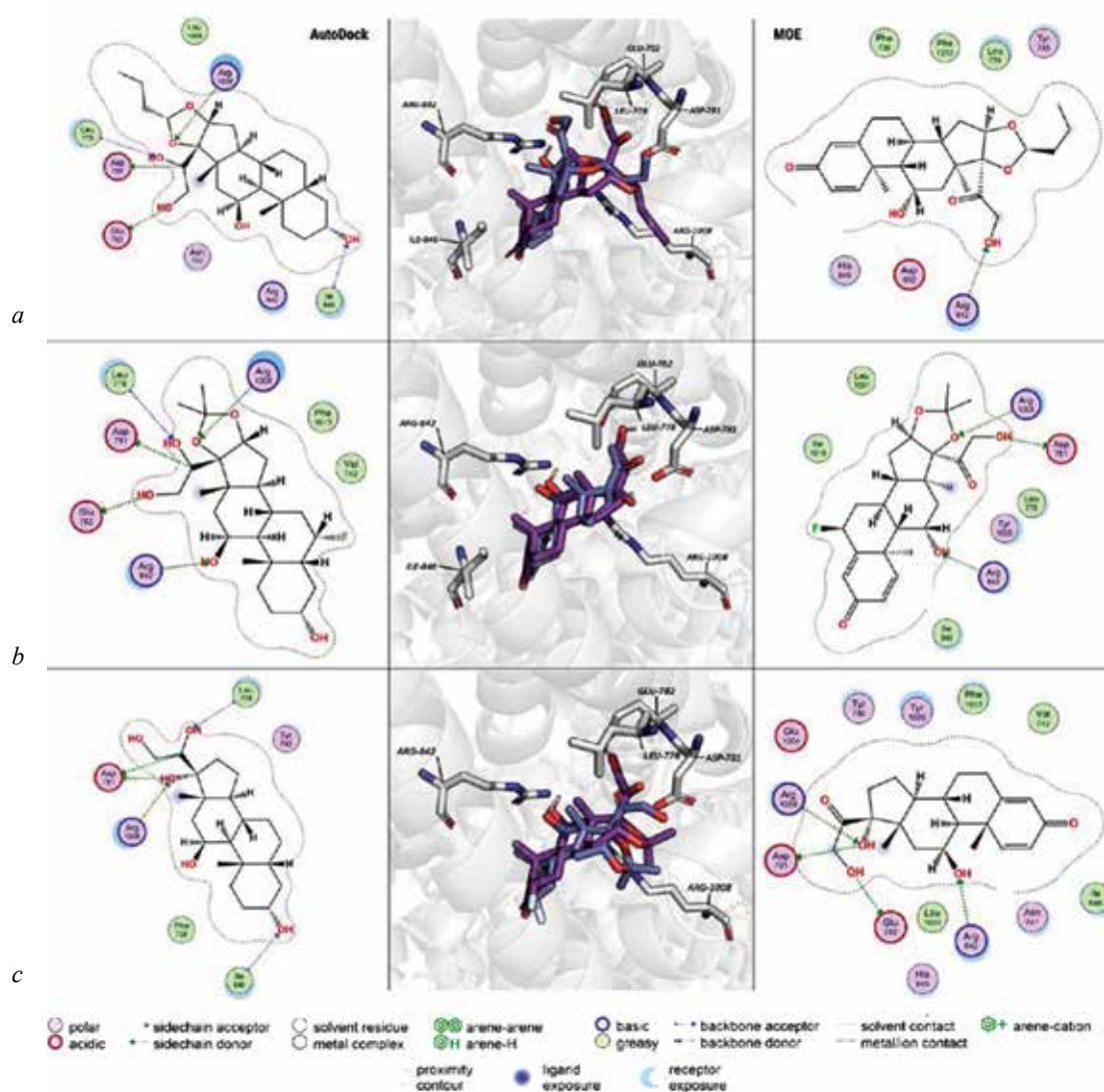
У преднизолона, флунизотида и будесонида RMSD находится в пределах 3 Å, что свидетельствует об относительно близком взаиморасположении молекул, несмотря на использование разных подходов к генерации комплексов. Похожесть конформаций свидетельствует о воспроизводимости результатов для данных ГКС при анализе двумя разными программами. Тем не менее информации о положе-

нии молекул для достоверного анализа недостаточно, поскольку как лиганды, так и аминокислотные остатки в разных программах интерпретируются с различными силовыми полями и различной pH, что демонстрируется, в свою очередь, различными структурными взаимодействиями лигандов с аминокислотными остатками (рис. 1).

К примеру, MOE показало взаимодействие преднизолона с Arg842, тогда как в AutoDock данный ГКС взаимодействует уже с пятью остатками: Leu778, Asp781, Glu782, Ile846, Arg1008. Взаимодействия флунизотида и будесонида происходят практически с теми же аминокислотными остатками, что и для преднизолона, но в различных комбинациях.

По данным результатам можно сделать несколько выводов. Структуры молекул большинства отобранных ГКС очень похожи и отличаются наличием или отсутствием гидроксильных групп в определенных положениях. Следовательно, во-первых, аминокислотные остатки для ранее упомянутых лигандов в сайте связывания похожи и, во-вторых, отличия обусловлены наличием или отсутствием гидроксильных групп в определенном положении, а также разной степенью протонирования. Данные заключения более свойственны результатам, полученным в MOE, поскольку в данной программе возможна конформационная изменчивость как сайта связывания, так и самого лиганда.

Отдельного анализа заслуживает конформация беклометазона дипропионата с TRPM8, смоделированная в MOE (рис. 2), обладающая двумя ключевыми особенностями, несмотря на высокое RMSD относительно комплекса с AutoDock: взаимодействие с ключевой аминокислотой Tyr745 [27] посредством Н-π (водородной) связи и наименьшую энергию связывания, рассчитанную данным программным обеспечением, демонстрируя самое стабильное сцепление данного ГКС с TRPM8. Интерес к комплексу беклометазону дипропионату с TRPM8 в MOE вызван тем, что это единственная конформация, где ГКС образует связь с Tyr745. Поскольку молекулярный докинг в AutoDock проходит жестко, т. е. без конформационных изменений лиганда и сайта связывания, а в MOE данная «подвижность» при расчетах учитывается (был использован протокол Induced Fit). Поэтому стоит считать данные результаты более правдоподобными и потенциально подходящими для будущего проведения молекулярно-динамического моделирования с оценкой прочности связывания комплекса во времени, а также с использованием поляризованных силовых полей.



Данная необходимость обусловлена тем, что большинство алгоритмов молекулярного докинга учитывают только частичные заряды всей молекулы лиганда, игнорируя ее отдельные функциональные группы, в то время как большая часть ГКС имеет полярные сольватные группы (пропионовую, ацетонидную), которые могут играть ключевую роль в положении молекулы.

RMSD положений лигандов (флутиказона пропионата, гидрокортизона, триамцинолона ацетонида, дексаметазона) при сравнительном анализе результатов AutoDock 4.2 и МОЕ значительно выше. Это делает затруднительным окончательную интерпретацию получившихся взаимодействий для данных ГКС, поэтому для этих лигандов корректным было бы проведение дополнительного анализа методами *ab initio*.

При визуальном анализе всех конформаций, полученных в AutoDock, можно сделать вывод, что жесткая ориентация молекул ГКС шла в основном по стероидному кольцу с минимальными отклонениями друг относительно друга. Что касается конформаций, смоделированных в МОЕ, различия в них более значительны, что обусловлено учетом минорных отличий (функциональных групп, конформационной изомеризации лиганда) в структурах лигандов.

Абсолютные значения энергий, рассчитываемые для различных конформаций, с одной стороны, бывают далеки от реальных значений, однако, с другой – позволяют рассматривать их с относительной точки зрения, т. е. сравнивать энергии связывания различных молекул, ранжируя их степень сродства друг относительно друга. Таким образом, ряд лигандов по степени сродства к TRPM8 (от наибольшего к наименьшему, т. е. от наименьшей энергии к наибольшей) по результатам скоринга в AutoDock имеет следующий вид: триамцинолона ацетонид, дексаметазон, беклометазона дипропионат, будесонид, флунизолид, гидрокортизон, преднизолон и флутиказона пропионат.

По результатам скоринга в МОЕ – беклометазона дипропионат, будесонид, флунизолид, дексаметазон, гидрокортизон, флутиказона пропионат, триамцинолона ацетонид и преднизолон. По данному ряду видно, что беклометазон, будесонид, флунизолид, гидрокортизон и флутиказона пропионат/преднизолон идут в одном порядке, что представляет собой весьма хорошую корреляцию результатов между собой (шесть из восьми). По этому ряду в будущем планируется произвести исследование влияний синтетических ГКС на TRPM8 *in vitro*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование демонстрирует общие закономерности в молекулярном взаимодействии различных синтетических ГКС с мишенью, полученных двумя различными методами. Для преднизолона, флунизолида и будесонида значение RMSD было менее $2,5\text{\AA}$ ($\pm 0,1\text{\AA}$). Это свидетельствует о конформационных сходствах о воспроизводимости результатов как в AutoDock, так и в МОЕ. Стоит отметить, что в молекулярной полости сайтами связывания служили различные аминокислотные остатки, за исключением Tyr745, что может характеризовать антагонистический потенциал преднизолона, флунизолида и будесонида. Для ГКС, чьи конформации существенно различались, также игнорировалось образование водородных связей с аминокислотным остатком Tyr745, что согласуется с остальными результатами.

Исключением из перечня ГКС стал беклометазона дипропионат, который все же образовал водородную связь с Tyr745. Исследование позволило отобрать наиболее перспективные ГКС, подходящие для дальнейшего анализа с использованием методов молекулярной динамики, что позволит уточнить стабильность комплексов ГКС с TRPM8. Заключительное подтверждение возможности ГКС не только образовывать комплексы с рецептором TRPM8, но и ингибировать его должно быть получено в ходе экспериментов *in vitro* препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пока для исследовательской группы также остаются большим вопросом детали механизмы противовоспалительного эффекта ГКС, опосредованных через ионный канал TRPM8. Тем не менее в случае экспериментального подтверждения возможность фармакологической модуляции TRPM8 ГКС позволит с другой стороны взглянуть на терапевтический потенциал данных гормонов, в том числе при лечении хронических обструктивных заболеваний легких, респираторного тракта и патологических холодно-индуцированных реакций дыхательных путей, а также оптимизировать подходы к персонализированному применению глюкокортикоидных

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bidaux G., Sgobba M., Lemonnier L., Borowiec A.S., Noyer L., Jovanovic S. et al. Functional and modeling studies of the transmembrane region of the TRPM8 channel. *Biophys J.* 2015;109(9):1840–1851. DOI: 10.1016/j.bpj.2015.09.027.
2. Andersen H.H., Olsen R.V., Møller H.G., Eskelund P.W., Gazerani P., Arendt-Nielsen L. A review of topical high-concentration l-menthol as a translational model of cold allodynia

- ia and hyperalgesia. *Eur. J. Pain.* 2013;18(3):315–325. DOI: 10.1002/j.1532-2149.2013.00380.x.
3. Diver M.M., Cheng Y., Julius D. Structural insights into TRPM8 inhibition and desensitization. *Science.* 2019;365(6460):1434–1440. DOI: 10.1126/science.aax6672.
 4. Key F.M., Abdul-Aziz M.A., Mundry R., Peter B.M., Sekar A., D'Amato M. et al. Human local adaptation of the TRPM8 cold receptor along a latitudinal cline. *PLoS Genet.* 2018;14(5):e1007298. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007298.
 5. Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reill C.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008;39(4):466–474. DOI: 10.1165/rcmb.2007-0440oc.
 6. Sevilla L.M., Jiménez-Panizo A., Alegre-Martí A., Estébanez-Perpiñá E., Caelles C., Pérez P. Glucocorticoid resistance: Interference between the glucocorticoid receptor and the MAPK signalling pathways. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18):10049. DOI: 10.3390/ijms221810049.
 7. Frank F., Ortlund E.A., Liu X. Structural insights into glucocorticoid receptor function. *Biochem. Soc. Trans.* 2021;49(5):2333–2343. DOI: 10.1042/bst20210419.
 8. Méndez-Reséndiz K.A., Enciso-Pablo Ó., González-Ramírez R., Juárez-Contreras R., Rosenbaum T., Morales-Lázaro S.L. Steroids and TRP channels: A close relationship. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3819. DOI: 10.3390/ijms21113819.
 9. Borodin E., Leusova N., Chupalov A., Timkin P., Timofeev E., Kolosov V. et al. The strategy for searching of potential ligands for TRPM8 based on use of deep neural networks and intermolecular docking. *Eur. Respir. J.* 2021;58:PA2383. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA2383.
 10. Latorre M., Novelli F., Vagaggini B., Braido F., Papi A., Sanduzzi A. et al. Differences in the efficacy and safety among inhaled corticosteroids (ics)/long-acting beta2-agonists (LABA) combinations in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): Role of ICS. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2015;30:44–50. DOI: 10.1016/j.pupt.2014.10.006.
 11. Ramakrishnan S. Prednisolone for COPD exacerbations: Time for a rethink. *ERJ Open Res.* 2023;9(5):00464–2023. DOI: 10.1183/23120541.00464-2023.
 12. Melani A.S. Flunisolide for the treatment of asthma. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2014;7(3):251–258. DOI: 10.1586/17512433.2014.908117.
 13. Doymaz S., Ahmed Y.E., Francois D., Pinto R., Gist R., Steinberg M. et al. Methylprednisolone, dexamethasone or hydrocortisone for acute severe pediatric asthma: does it matter? *J. Asthma.* 2021;59(3):590–596. DOI: 10.1080/02770903.2020.1870130.
 14. Sellers A.R., Roddy M.R., Darville K.K., Sanchez-Tepa B., McKinley S.D., Sochet A.A. Dexamethasone for pediatric critical asthma: A multicenter descriptive study. *J. Intensive Care Med.* 2022;37(11):1520–1527. DOI: 10.1177/08850666221082540.
 15. Kwda A., Glde P., Bauj B., Kasr K., Us H., Wijeratne S. et al. Effect of long term inhaled corticosteroid therapy on adrenal suppression, growth and bone health in children with asthma. *BMC Pediatr.* 2019;19(1):411. DOI: 10.1186/s12887-019-1760-8.
 16. Allen D.B. Inhaled corticosteroids and endocrine effects in childhood. *Endocrinology and Metabolism Endocrinol. Meta.b Clin. North. Am.* 2020;49(4):651–665. DOI: 10.1016/j.ecl.2020.07.003.
 17. Тальдаев А.Х., Никитин И.Д., Терехов Р.П., Селиванова И.А. Молекулярный докинг: методологические подходы к оценке рисков. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(2):206–210. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-206-210.
 18. Jakubec D., Skoda P., Krivak R., Novotny M., Hoksza D. PrankWeb 3: accelerated ligand-binding site predictions for experimental and modelled protein structures. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(W1). DOI: 10.1093/nar/gkac389.
 19. Jendele L., Krivak R., Skoda P., Novotny M., Hoksza D. PrankWeb: A web server for ligand binding site prediction and visualization. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1). DOI: 10.1093/nar/gkz424.
 20. Krivák R., Hoksza D. P2Rank: Machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure. *J. Cheminform.* 2018;10:39. DOI: 10.1186/s13321-018-0285-8.
 21. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S. et al. AUTODOCK4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
 22. Velázquez-Libera J.L., Durán-Verdugo F., Valdés-Jiménez A., Núñez-Vivanco G., Caballero J. LigRMSD: a web server for automatic structure matching and RMSD calculations among identical and similar compounds in protein-ligand docking. *Bioinformatics.* 2020;36(9):2912–2914. DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa018.
 23. Castro-Alvarez A., Costa A., Vilarrasa J. The performance of several docking programs at reproducing protein-macrolide-like crystal structures. *Molecules.* 2017;22(1):136. DOI: 10.3390/molecules22010136.
 24. Schrödinger L., DeLano W. PyMOL. 2020. URL: <http://www.pymol.org/pymol>
 25. Malkia A., Pertusa M., Fernández-Ballester G., Ferrer-Montiel A., Viana F. Differential role of the menthol-binding residue Y745 in the antagonism of thermally gated TRPM8 channels. *Mol. Pain.* 2009;3(5):62. DOI: 10.1186/1744-8069-5-62.
 26. Bertamino A., Ostacolo C., Medina A., Di Sarno V., Lauro G., Ciaglia T. et al. Exploration of TRPM8 binding sites by β -carboline-based antagonists and their in vitro characterization and in vivo analgesic activities. *J. Med. Chem.* 2020;3(17):9672–9694. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00816.
 27. Beccari A.R., Gemei M., Lo Monte M., Menegatti N., Fanton M., Pedretti A. et al. Novel selective, potent naphthyl TRPM8 antagonists identified through a combined ligand- and structure-based virtual screening approach. *Sci. Rep.* 2017;7(1):10999. DOI: 10.1038/s41598-017-11194-0.

Информация об авторах

Тимкин Павел Дмитриевич – аспирант, кафедра химии, Амурская ГМА, г. Благовещенск, timkin.pasha@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

Котельников Данил Дмитриевич – студент 2-го курса, Дальневосточный ГАУ, г. Благовещенск, danil.kotelnikov.02@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0003-5159-5796>

Тимофеев Эдуард Андреевич – студент 5-го курса, Амурская ГМА, г. Благовещенск, smileket@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3888-2091>

Наумов Денис Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, denn1985@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3921-8755>

Бородин Евгений Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой химии Амурская ГМА, г. Благовещенск, borodin54@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

(✉) **Тимкин Павел Дмитриевич**, timkin.pasha@mail.ru

Поступила в редакцию 16.01.2024;
одобрена после рецензирования 18.04.2024;
принята к публикации 14.05.2024

УДК 616.5-003.93:616-001.4]-089.4:004.356.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-145-157>

Использование трехмерной биопечати для регенерации кожи и заживления ран (обзор литературы)

Барсук И.А.¹, Головкин К.П.^{1,2}, Александров В.Н.^{1,3}, Хасанов А.Р.¹, Эдгеев Н.И.⁴, Галиуллин Р.И.⁴

¹ Военно-медицинская академия (ВМедА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

² Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)
Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

⁴ Филиал № 4 1469-го военно-морского клинического госпиталя
Россия, 184310, г. Заозерск, ул. Матроса Рябина, 22

РЕЗЮМЕ

Трехмерная биопечать в настоящее время применяется в самых разных областях медицины, являясь движущей силой многих медицинских исследований. Эти исследования способствуют продвижению в область персонализированной медицины, включающих печать сложных человеческих органов для их использования в клинической практике. Одним из ведущих направлений в продвижении трехмерной биопечати является разработка биочернил определенного состава с заданными свойствами.

Цель настоящего систематического обзора состоит в анализе данных современных биомедицинских исследований, касающихся оценки эффективности использования трехмерной биопечати для регенерации кожи и заживления ран. Всеобъемлющий поиск всех релевантных оригинальных статей выполнили на основе заранее определенных критериев приемлемости. Поиск проводили с использованием платформ PubMed, Web of Science, Scopus, Medline Ovid и ScienceDirect.

В результате сужения области поиска из 2 256 статей отобрали 18, полностью соответствовавших критериям включения. Во все отобранные исследования было включено 159 животных с раневыми дефектами. В качестве биочернил чаще всего использовали коллагеновые и желатиновые гидрогели. В части клеточного компонента преобладали аллогенные фибробласты и кератиноциты. Период наблюдения колебался от 1 сут до 6 нед. В большинстве включенных исследований на животных полное закрытие раны достигалось через 2–4 нед.

Результаты как *in vitro*, так и *in vivo* показали положительное влияние напечатанных биоинженерных конструкций на ускорение заживления ран. Особый интерес представляет исследование, где биопечать выполняется непосредственно в ране *in situ*.

Проведенное исследование позволяет сделать вывод о необходимости отработки технологии биопечати тканей для лечения кожных ран на животных моделях с использованием стандартизированных параметров, чтобы открыть двери для клинических испытаний на людях.

Ключевые слова: 3D-биопринтинг, биочернила, биополимеры, заживление ран, регенерация кожи, раневые повязки

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

✉ Барсук Илья Александрович, barsuk20220@gmail.com

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

Для цитирования: Барсук И.А., Головки К.П., Александров В.Н., Хасанов А.Р., Эдгеев Н.И., Галиуллин Р.И. Использование трехмерной биопечати для регенерации кожи и заживления ран (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):145–157. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-145-157>.

The use of three-dimensional bioprinting for skin regeneration and wound healing (literature review)

Barsuk I.A.¹, Golovko K.P.^{1,2}, Alexandrov V.N.^{1,3}, Khasanov A.R.¹, Edgeev N.I.⁴, Galiullin R.I.⁴

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy

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

² Saint Petersburg State University

7–9, Universitetskaya Embankment, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University

2, Litovskaya Str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

⁴ Branch No. 4 of Naval Clinical Hospital No. 1469

22, Matrosa Ryabinina Str., Murmansk region, Zaozersk, 184310, Russian Federation

ABSTRACT

Three-dimensional (3D) bioprinting is rapidly proliferating across many medical disciplines and is making strides towards manufacturing intricate human organs for clinical application. One of the most promising areas in 3D bioprinting is development of bioinks with certain composition and designed properties.

The aim of this systematic review was to assess current biomedical research evidence regarding the efficacy of 3D bioprinting for skin regeneration and wound healing. A comprehensive search for all applicable original articles was conducted according to pre-established eligibility criteria. The study employed PubMed, Web of Science, Scopus, Medline Ovid, and ScienceDirect databases.

Of the retrieved articles, eighteen satisfied the inclusion criteria, while twenty-three were excluded. A total of 159 animals that had wound defects were considered in all animal-based research. Collagen and gelatin hydrogels were the most commonly employed bioinks. In relation to cellular composition, allogeneic fibroblasts and keratinocytes were predominant. The observation period ranged from one day to six weeks. Complete wound closure was achieved within 2–4 weeks in most animal studies. *In vitro* and *in vivo* animal studies have shown a positive effect of printed bioengineered constructs in accelerating wound healing. Notably, the research where bioprinting was performed directly in the wound *in situ* was of particular interest. Further studies are required to enhance the tissue bioprinting technique to address skin wound healing in animal models. The utilization of standardized parameters may pave the way for human clinical studies.

Keywords: 3D bioprinting, bioinks, biopolymers, wound healing, skin regeneration, wound dressings

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

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

For citation: Barsuk I.A., Golovko K.P., Alexandrov V.N., Khasanov A.R., Edgeev N.I., Galiullin R.I. The use of three-dimensional bioprinting for skin regeneration and wound healing (literature review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):145–157. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-145-157>.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждение тканей представляет собой серьезную медицинскую проблему, на которую ежегодно приходится около половины расходов на здравоохранение в мире [1]. Механизм заживления раны представляет собой многоэтапный процесс, направленный на защиту и регенерацию поврежденного участка ткани [2]. Дабы избежать нежелательных осложнений, течение этого процесса требует ухода за пациентом и применения подходящих перевязочных средств. Хотя традиционные раневые покрытия (например, марля, ворс, пластырь и бинты) защищают рану от загрязнений, они требуют частой смены, чтобы избежать инфицирования и мацерации соседних тканей, в дополнение к их склонности прилипать к ране, что делает замену травматичной и болезненной [3].

Технологии аддитивного производства предлагают способы быстрого заживления ран, чтобы избежать распространенных осложнений, таких как контрактуры раны и образование рубцов [4]. Трехмерная биопечать является одной из развивающихся технологий адаптивного производства, цель которой – использование биосовместимых материалов в комплексе с живыми клетками и факторами роста для имитации и восстановления внеклеточного матрикса органов человека [5]. Этот подход позволяет послойно печатать гибкие конструкции из гидрогелей путем преобразования цифровой CAD (computer-aided design) модели в сложные трехмерные структуры [6].

Характеристики продукта, полученного методом 3D-биопечати, практически полностью определяются свойствами используемых биочернил. В связи с этим биочернила являются ключевым определяющим компонентом трехмерной биопечати [7, 8].

В процессе обычной 3D-печати чернила подаются на формование в виде расплава при высокой температуре (пластик, керамика и сплавы), но для биопечати такие условия неприемлемы. Биочернила должны отвечать высоким требованиям биосовместимости, чтобы способствовать росту клеток, быть механически стабильными и поддерживать сохранение формы напечатанной конструкции [9]. Некоторые параметры оказывают большое влияние на определение высокой функциональной целостности биочернил, включая параметры клеточной нагрузки (например, тип клеток, плотность клеток и период их инкубации), физико-химические свойства (например, истончение при сдвиге, вязкость, степень сшивания и время гелеобразования) и параметры печати (например, температура и диаметр сопла, скорость подачи и продолжительность печати) [10, 11]. Кроме того, выбор типа клеток и их источника имеют

решающее значение для предотвращения иммунного отторжения после имплантации. Первичные клетки кожи, такие как кератиноциты, меланоциты и фибробласты, могут быть надлежащим образом выделены из донорской кожи, а затем совместно культивироваться в процессе биопечати кожи [12, 13].

В качестве основы для биочернил применяют различные природные и синтетические полимерные гидрогели [14]. Гидрогели – класс сшитых полимерных веществ, способных абсорбировать и удерживать большое количество воды. Они способны поглощать воду до 1 000 раз больше своего первоначального веса без растворения [15], что делает их идеальными для инкапсулированных клеток в связи со своей высокой проницаемостью для кислорода питательных веществ и других водорастворимых соединений. Клетки внутри гидрогеля имеют возможность мигрировать и связываться с друг с другом через пористую сеть [16]. Все эти свойства позволили гидрогелям стать одним из основных материалов для 3D-биопечати [17, 18].

Несмотря на отсутствие механической стабильности, 90% полимеров, используемых в биопечати, получены из природных источников [19]. Биополимеры на природной основе имеют различные преимущества перед синтетическими биополимерами благодаря их высокому сходству с составом внеклеточного матрикса человека, которое позволяет имитировать нативное микроокружение клеток, облегчая их прикрепление, пролиферацию, миграцию и дифференцировку [20–22].

После повсеместного внедрения 3D-биопечати в начале прошлого десятилетия возникла необходимость в поиске пригодных для печати биосовместимых полимеров для возможности использования данной технологии в медицине. Согласно отчету о цитировании, применение подхода 3D-биопечати для заживления ран и регенерации кожи началось в 2012 г. с использованием коллагеновых биочернил. Количество исследований достигло 12 в 2017 г. и 19 в 2019 г., а к середине 2020 г. число опубликованных работ составило около 70. В большинстве опубликованных исследований в качестве основного компонента биочернил использовались природные полимеры.

Использование таких природных полимеров при изготовлении средств для лечения ран было предметом споров между исследователями, и хотя многие из их недостатков были признаны решаемыми, никакого явного соглашения или решения принято не было. Основной целью настоящего систематического обзора стала оценка эффективности использования биопечати с применением биочернил на основе природных полимеров в ка-

честве заменителей кожи для регенерации тканей кожи и заживления ран. В дополнение к сообщениям о биологических свойствах, полученных в результате биопечати конструкций в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, в этом обзоре также приводятся возможные рекомендации по использованию таких конструкций на практике.

Настоящий обзор провели в соответствии с контрольным списком предпочтительных пунктов уведомления для систематических обзоров и метаанализов (PRISMA) [18]. Для сбора цифровых записей из пяти электронных баз данных (РИНЦ, PubMed, Web of Science, Scopus, и ScienceDirect) применяли всеобъемлющую стратегию поиска.

Поисковый запрос состоял из 18 терминов, включающих два набора: 1 – кожа, «регенерация кожи», «инженерия тканей кожи», «заживление ран», «рана» и «ожоги»; 2 – «3D-биопринтинг», «3D-печать», «3D-печать клеток», «трехмерная печать», «биопечать», «3D-каркас» и «3D-прототипирование». Этот запрос был направлен на выявление в качестве результатов 3D-биопечатных заменителей кожи в качестве средства для заживления ран или регенерации кожи.

Предварительно проверяли заголовки и рефераты всех выявленных записей на предмет потенциально релевантных исследований. Включенные записи проверяли дополнительно путем прочтения полного текста, чтобы убедиться в их приемлемости. Для включения статья должна была соответствовать следующим критериям: использование «природных» биочернил; фактическое исследование *in vitro* или *in vivo*;

каркас получен методом 3D-биопечати; оригинальная статья, написанная на русском или английском языке. Исключили статьи, подпадающие под следующие критерии: отдельные статьи с рассмотрением теоретической возможности использования 3D-биопечати, применение «синтетических» биочернил, хронические раны, систематические и описательные обзоры, интерпретации, серии случаев, руководства и технические отчеты.

Из включенных исследований записывали следующие данные: 1 – информация об исследовании (авторы, год публикации, дизайн исследования, база данных и название журнала); 2 – детали вмешательства (используемые биоматериалы и клетки, время гелеобразования, температура печати, сшивающие материалы и методы, а также методы печати); 3 – детали результата: реологические, механические и биологические характеристики, точность формы конструкции и время заживления раны.

Первоначально в результате поиска было найдено 4 345 статей, но после удаления дубликатов для проверки отобрали 2 566 статей. После проверки заголовков и рефератов 2 499 записей было исключено из-за несоответствия критериям включения, в результате чего осталось 18 статей. Для оценки были определены основные параметры: дизайн исследования, метод биопечати и сшивки полимера, материал основы биочернил, клеточный компонент биочернил, уровень жизнеспособности клеток после процесса печати, использованные для эксперимента животные. Сводные характеристики и результаты исследований представлены в таблице.

Таблица

Краткая характеристика и результаты отобранных исследований				
Дизайн работы	Биочернила	Используемые клетки/животные	Вывод	Ссылка
<i>In vitro</i>	Коллаген-хитозановая смесь	NIH 3T3	При печати чернилами с различными соотношениями коллаген/хитозан определена оптимальная скорость подачи чернил, составившая от 0,19 до 0,42 мкл/с	[23]
<i>In vitro</i>	CNF/GelMA	NIH 3T3	Каркасы биочернил CNF/GelMA не проявляли цитотоксичности и обладали хорошей цитосовместимостью с фибробластами мыши 3T3	[24]
<i>In vitro</i>	Сульфатированный и богатый рамнозой XRU	HDFs	При тестировании с HDFs было обнаружено, что гидрогель XRU чрезвычайно биосовместим с высокой с клетками и способствует их активной пролиферации и прикреплению	[25]
<i>In vitro</i>	Суспензия dSIS	HDFs	Каркас из dSIS, разработанный в исследовании, может быть потенциальным кандидатом для применения в лечении дефектов кожи, совмещая в себе высокую точность получаемых конструкций и высокий коэффициент набухания	[26]
<i>In vitro</i>	Нативный коллаген марки Viscoll	NIH 3T3	Усовершенствованные биочернила Viscoll позволяют создавать конструкции сложной геометрии без использования химического/фотосшивания для сохранения заданной формы	[27]
<i>In vitro</i>	Альгинат/желатин	AECs и WJMSCs	Человеческие AEC продемонстрировали превосходный фенотип эпителиальных клеток, в то время как WJMSCs показали расширенный ангиогенный и фибробластический потенциал	[28]

Дизайн работы	Биочернила	Используемые клетки/животные	Заключение	Ссылка
<i>In vitro</i> и <i>in vivo</i>	BCNFs, SF/Желатин	Фибробласты линии L929 и 12 голых мышей	Введение нановолокон из бактериальной целлюлозы мало повлияло на параметры печати композитных биочернил. Полученные данные показали, что пористая структура обладает благоприятными свойствами для снабжения питательными веществами формирующихся тканей после имплантации <i>in vivo</i>	[29]
<i>In vivo</i>	Фибриноген, тромбин и коллаген I типа	HDFs, HEK 293 и 36 самок голых мышей + 6 свиней	Трехмерная биопечать <i>in situ</i> аутологических клеток ускорила процесс заживления ран примерно на три недели по сравнению с другими методами лечения	[30]
<i>In vitro</i>	CNF	HDFs	Использование матрицы созданной с помощью 3D-печати, в отличие от 2D-каркасов, ускоряло пролиферацию клеток, что является важным фактором, необходимым для быстрого заживления ран	[31]
<i>In vitro</i>	Альгинат натрия/желатин	HDFs	EDC-CaCl ₂ показал более высокую пролиферацию клеток и был более подходящим в качестве замены дермы	[32]
<i>In vitro</i>	Коллаген	NIH 3T3, линия клеток Vero	Структура микро- и макропор фибриллярного коллагена способствовала высокому прикреплению и пролиферации клеток при температуре 37 °C	[33]
<i>In vitro</i> и <i>in vivo</i>	S-dECM	HDFs, HEK 293 и 8 самцов BALB/cA-пи голых мышей	Изготовленные биочернила S-dECM не проявляли цитотоксичности и обладали высокой биосовместимостью, подобно собственному коллагену типа I. Конструкции, напечатанные на 3D-принтере биочернилами S-dECM, ускорили закрытие ран, обеспечили неоваскуляризацию и надежный кровоток в месте имплантации	[34]
<i>In vitro</i>	Альгинат/мед	NIH 3T3	Добавление около 1–2% меда улучшило пролиферацию клеток в биопечатном альгинате без существенного снижения пригодности для печати	[35]
<i>In vitro</i>	Желатин	HDFs	В желатиновых каркасах G8–G12 скорость роста клеток HDFs была примерно на 14% выше, чем в желатиновых каркасах G6. Механические свойства сильно зависят от размера пор	[36]
<i>In vitro</i> и <i>in vivo</i>	SS/GelMA	Фибробласты линии L929, HDFs, HaCaT и 21 самка крыс Sprague Dawley	Было показано, что включение серицина шелка (SS) в матрицы способствует росту клеток (HDFs). Исследование также показало, что SS/GelMA подходит для применения в клеточных культурах (HaCaT), поскольку даже через 7 сут дней обеспечивалась высокая жизнеспособность клеток	[37]
<i>In vitro</i> и <i>in vivo</i>	G-SF-SO ₃ -FGF2	HDFs/36 самцов крыс Sprague Dawley	Использование 100 нг/мл FGF2 привело к увеличению скорости пролиферации примерно на 40%. Каркас, покрытый сульфированным SF, способствовал адгезии, пролиферации и росту клеток. Фактор роста FGF2 усиливал резпитализацию, а также стимулировал образование кровеносных сосудов и экспрессию различных соответствующих этому процессу маркеров	[38]
<i>In vivo</i>	Желатин-альгинат	40 самок мышей	Было обнаружено, что использование желатин-альгината снижает кровотечение из раны после имплантации. Также было обнаружено, что каркас способствует созреванию грануляционной ткани и заживлению ран	[39]
<i>In vitro</i>	Коллаген	HDF и HEK 293	Исследование показало, что фибробласты и кератиноциты могут быть последовательно напечатаны, слой за слоем, в виде дермоподобного и эпидермоподобного слоя. Техника 3D-печати обеспечивает высокий контроль за формой и качеством получаемых инженерных тканей кожи	[40]

Примечание. NIH 3T3 – линия эмбриональных фибробластов мыши; CNF – нанофибриллярная целлюлоза; GelMA – метакрилат желатина; XRU – ксилорамноуроновая кислота; HDFs – кожные фибробласты человека; dSIS – суспензия децеллюляризованной подслизистой оболочки тонкой кишки; AECs – амниотические эпителиальные клетки; WJMSCs – мезенхимальные стромальные стволовые клетки, полученные из желе Уортона; BCNF – нановолокна бактериальной целлюлозы; SF – фиброин шелка; EDC – N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодимид; Vero – линии клеток из эпителия почки, взятой у африканской зеленой мартышки; S-dECM – внеклеточный матрикс кожного происхождения; HEK 293 – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; SS – серицин шелка; HaCaT – клеточная линия кератиноцитов человека; G-SF-SO₃-FGF2 – желатин-сульфированный композит шелка с фактором роста фибробластов группы 2-сульфонозой кислоты; CFFs – колониеобразующие фибробласты.

ДИЗАЙН ВКЛЮЧЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первичную классификацию работ проводили по дизайну исследования. Двенадцать исследований были проведены *in vitro* [23–28, 31–33, 35, 36, 40], два исследования – *in vivo* [30, 39], в четырех проводились совместно *in vitro* и *in vivo* [29, 34, 37, 38].

МЕТОДЫ БИОПЕЧАТИ И СШИВКИ ПОЛИМЕРА

В основном использовалась техника биопечати на основе экструзии, и только в двух исследованиях сообщалось об использовании метода струйной биопечати [30, 40]. Использовались различные методы сшивания, и только в шести исследованиях [27, 29, 30, 33–35] сообщалось, что сшивающий агент не применялся. Использовались следующие методы:

1. Сшивание химическим реагентом: Ca^{+2} [24, 28, 31], CaCl_2 [32, 39], 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимидом (EDC) [40], N-гидроксисукцинимид-1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимидом (EDC-NHS) [23, 32, 36, 38], распыленным бикарбонатом натрия (NaHCO_3) [26], 1,4-бутандиол диглицидиловым эфиром (BDDE) [31].

2. Сшивание физическим воздействием: ультрафиолетом [24, 25, 37] или охлаждением [28, 32].

МАТЕРИАЛ ОСНОВЫ БИОЧЕРНИЛ

Подавляющее большинство используемых материалов для основы биочернил представляли собой смесь гидрогелей желатина и коллагена. Хотя желатиновый гидрогель обладает оптимальными реологическими свойствами, он показал нулевую вязкость при температурах выше $27 \pm 1^\circ\text{C}$ [36], и во всех исследованиях желатина изучалось использование различных сшивающих агентов [24, 28, 29, 32, 36–39]. Напротив, в четырех исследованиях сообщалось о возможности печати коллагенового гидрогеля без необходимости использования химических сшивающих агентов [30, 33, 34, 36]. Также сообщалось об интеграции альгинатного гидрогеля с желатином [28, 32, 39] или медом [35].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

В целом в большинстве исследований *in vitro* в качестве клеточного компонента используются фибробласты. Чаще всего использовали дермальные фибробласты человека (HDF) [25, 26, 30–32, 34, 36–38, 40]. Далее по частоте использования следуют линии фибробластов мыши Т3Т [23, 24, 27, 33, 35] и L929 [29, 37]. Эпидермальные кератиноциты человека (НЕК) / клеточная линия кератиноцитов человека (HaCaT) использовали в четырех исследованиях [30,

34, 37, 40]. Еще в одном из исследований [28] использовали мультипотентные мезенхимные стромальные клетки из желе Уортона (WJMSC) и амниотические эпителиальные клетки (AECs), а также эпителиальные клетки Vero – в другом [33].

УРОВЕНЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК ПОСЛЕ ПРОЦЕССА ПЕЧАТИ

Считается, что высокотехнологичные материалы на основе полимеров естественного происхождения обладают превосходными биологическими свойствами. Тринадцать из 16 исследований *in vitro* сообщили о высоких скоростях пролиферации клеток. Несмотря на то, что в трех исследованиях [23, 37, 40] существенных изменений скорости пролиферации выявлено не было, они сообщили о высокой жизнеспособности клеток. В семи исследованиях отмечена хорошая жизнеспособность клеток [25–27, 29, 33, 35, 40], в пяти сообщалось о минимальной жизнеспособности клеток, равной от 85,07 до 98% [27, 28, 33, 34, 40]; в одном описано появление мертвых клеток, что указывает на низкую жизнеспособность клеток [26].

Кроме того, в 14 исследованиях сообщалось о высоком темпе роста клеток, и только суспензия децеллюляризованной подслизистой оболочки тонкой кишки (dSIS) [26] и биочернила на основе серицина шелка/метакрилата желатина (SS/GelMA) [37] не способствовали росту клеток. Все результаты исследований *in vivo* совпадали с результатами исследований *in vitro*, за исключением SS/GelMA [37], который продемонстрировал хорошие заживляющие свойства на ранах через две недели после их лечения.

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ЖИВОТНЫЕ

В исследованиях на животных суммарно использовано 159 особей, в каждом исследовании – от 8 до 40. В четырех исследованиях использовали мышей [29, 30, 34, 39], в двух – крыс [37, 4038] и в одном – свиней [30].

ОБЗОР ВКЛЮЧЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опираясь на результаты 18 исследований на клеточных культурах *in vitro* и на животных *in vivo*, настоящий систематический обзор показывает, что 3D-биопечатные конструкции из природных полимеров могут способствовать полному закрытию кожных ран. Большинство 3D-биопечатных заменителей кожи способствовали пролиферации, адгезии и дифференцировке клеток, а в большинстве исследований *in vitro* сообщалось о высокой жизнеспособности клеток. Более того, все исследования на

животных показали общее уменьшение площади ран у животных через две недели после операции. Однако учитывая технические трудности и практические проблемы оценки жизнеспособности культуры клеток *in vitro* и динамику раневого процесса в исследованиях на животных *in vivo*, необходимо признать, что исследования на животных – это только первый шаг на пути внедрения подобных технологий в клиническую практику.

Основная цель использования 3D-биопринта при заживлении ран – быстрое лечение непосредственно поврежденных тканей *in situ*. В одной из работ [30] была произведена биопринт с использованием биочернил из фибриногена и тромбина с коллагеном I типа, включающих клетки линии эмбриональных фибробластов мыши (HDFs) и клетки линии, полученных из эмбриональных почек человека (HEK 293), которая выполнялась непосредственно на рану в области спины у мышей и свиней. Вокруг раны наносили маркерные точки, после чего рану сканировали ручным сканером. На основании данных сканирования раны, для биопринтера формировался файл формата STL, включающий в себя информацию о планиметрии точек для движения сопла биопринтера. Это необходимо для объемного заполнения раны в процессе биопринта. Данный подход в рамках проведенного эксперимента позволил ускорить процесс заживления ран примерно на 3 нед по сравнению с другими методами лечения. Иммуногистохимическое исследование показало, что HDFs и HEK 293 были обнаружены вместе с эндогенными клетками в слоях дермы и эпидермиса раны через 3–6 нед после операции.

ОСНОВНОЙ МЕТОД 3D-БИОПЕЧАТИ

В рассмотренных работах, как было указано выше, основным методом трехмерной биопринта являлась экструзионная печать и лишь в двух исследованиях применялась струйная. Такая закономерность является логичной. Экструзионная печать является технически самой простой, позволяет печатать вязкие биочернила (30 мПа·с до 6×10^7 мПа·с) с очень высокой плотностью клеток [41, 42]. В сравнении с другими методами, очевидными недостатками экструзионной печати являются низкое разрешение (2 000–1 000 мкм), возможное засорение сопла и снижение жизнеспособности клеток при высоких скоростях печати вследствие повышения давления в экструдере, приводящее к повреждению клеточных мембран [41, 43, 44]. При использовании оптимальной скорости печати, не приводящей к повреждению клеток, и отсутствии потребности в высокой разрешающей способности вкупе с более низкой стоимо-

стью оборудования, экструзионная печать остается методом выбора при создании биоинженерных конструкций для лечения дефектов кожи.

МАТЕРИАЛЫ БИОЧЕРНИЛ

В исследованиях было использовано множество типов биочернил. Применяли как однокомпонентные биочернила, так и композитные, состоящие из нескольких компонентов. Используемые материалы в виде гидрогелей имеют необходимые физико-химические свойства, позволяющие применять их для печати, а также проявляют сходство с естественным внеклеточным матриксом кожи, что обеспечивает им высокую биосовместимость [14].

Коллаген. Коллаген в виде гидрогеля продемонстрировал требуемую биодеградацию (около 30 сут), высокую стабильность формы при 37 °С и отличную структуру микро- и макропор, которые способствуют прикреплению и пролиферации клеток [33]. Однако прямая 3D-биопринт коллагена по-прежнему ограничена, поскольку физические свойства раствора коллагена делают его плохо пригодным для печати, особенно когда в него включены клетки или тканевые сфероиды [27]. Примечательно, что, несмотря на ограниченные возможности печати чистым коллагеном, в большинстве исследований не применялось химическое сшивание. Вместо этого применялись такие методы, как смешивание с другими материалами (фибриноген и тромбин [30], хитозан [23]); использование фибриллярного коллагена [33]; применение низких концентраций коллагена (2–4%) [27]; регулирование плотности биочернил путем дозирования количества вводимых клеточных суспензий [40].

В том же контексте гелеобразование белков матрикса, таких как коллаген, обычно инициируется контролем pH, температуры либо учитываются оба этих параметра. Так как подход справедлив только для тонких структур (менее 1 мм), то в связи с ограничением диффузии или теплопередачи в толстых структурах (от 1 до 3 мм) его использование приводит к появлению негелированных областей в структуре напечатанной конструкции. Использование высоких pH или температуры для купирования вышеописанного эффекта не всегда применимо, так как может привести к серьезному повреждению клеток, включенных в раствор [40].

Желатин. Желатин – денатурированная форма коллагенового белка [45]. При низких температурах желатиновые нити образуют спиральные структуры, приводящие к гелеобразной форме [46]. Желатин сохраняет последовательность Arg-Gly-Asp и в отличие от своего предшественника является менее им-

муногенным, способствует клеточной адгезии, дифференцировке и пролиферации [47]. Тем не менее чистые растворы желатина обладают слабой механической прочностью и низкой вязкостью при температуре выше $27 \pm 1^\circ\text{C}$, что ограничивает использование желатина в 3D-биопечати.

Достаточно часто его смешивают с другими природными биоматериалами, такими как альгинат [28, 32, 39] и фиброин шелка (SF) [29], чтобы преодолеть низкую формуемость. Более того, метакрилат желатина (GelMA) также является потенциальными ранозаживляющими биочернилами из-за его высокой термочувствительности и способности к фотосшиванию. Также известно, что GelMA обладает хорошей биосовместимостью и способствует межклеточному взаимодействию и миграции клеток. Кроме того, выгодная механическая стабильность GelMA после сшивания УФ-излучением была использована для обеспечения высокой точности формы композитных биочернил, где в качестве второго компонента использовались нановолокна целлюлозы [24] и серицин шелка [25].

Альгинат. Альгинат – это полисахарид, состоящий из β -маннуроната и его C-5 эпимера α -L-глюконата [48]. Он является популярным гидрогелем, используемым в биопечати благодаря его биосовместимости, возможности различных вариантов сшивки и простоте использования [49]. Однако альгинат имеет множество ограничений, поскольку задержка сшивания может снизить точность формы биопечатных конструкций, в то время как быстрое сшивание ограничивает взаимодействие клеток с материалом, снижая их дальнейшую жизнеспособность.

В одном из исследований [35] была предпринята попытка преодолеть эти ограничения за счет снижения вязкости альгината с помощью добавления меда. Предполагалось, что включение меда позволит повысить жизнеспособность клеток без изменения способности альгината к печати. Было обнаружено, что даже печать простыми растворами альгината имеет низкую точность формы, хотя исследователи пытались увеличить вязкость альгината или экструдировать его с помощью химических сшивающих агентов, таких как Ca^{2+} [28].

Децеллюляризованный внеклеточный матрикс кожи (S-dECM). Внеклеточный матрикс (ECM) представляет собой неклеточную часть ткани или органа и в основном представляет собой сеть микроокружения, позволяющую клеткам выполнять свои функции. Каждая ткань имеет хорошо построенный внеклеточный матрикс, состоящий из нескольких компонентов, которые поддерживают нативную структуру и стимулируют миграцию клеток. Инте-

ресно, что ECM можно получить с помощью соответствующего протокола и использовать в качестве матрицы для регенерации тканей [50].

В одном из исследований авторы успешно децеллюляризовали кожу свиньи и создали на ее основе биочернила dECM, пригодные для печати. При исследовании *in vitro* они обнаружили, что по сравнению с коллагеновыми биочернилами 3D-биопечатный эквивалент кожи с использованием биочернил на основе ECM способствует стабилизации дермального отдела, улучшает эпидермальную организацию и обеспечивает физиологически важные функции кожи. Более того, 3D-кожа на основе dECM инкапсулировала эндотелиальные прогениторные клетки (EPC), а клетки плоского эпителия (ASCs) способствовали неоваскуляризации и реэпителизации, что проявлялось в ускорении заживления ран *in vivo* [34].

ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ БИОЧЕРНИЛ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК

Биосовместимость материалов для биопечати была тщательно исследована, описаны некоторые возможные факторы, которые могут повлиять на жизнеспособность клеток, адгезию, пролиферацию, миграцию и дифференцировку. В целом цитотоксичность является главным критерием, который следует оценивать при рассмотрении потенциального материала для медицинского использования. В большинстве включенных исследований проводили колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток (MTT-анализ), чтобы убедиться в отсутствии цитотоксичности или воспаления, вызванных химическим взаимодействием клетки с материалом. Примечательно, что только серицин шелка/биочернила GelMA вызывал острое воспаление на 7-е сут, которое исчезло в конце периода наблюдения [37].

Важным свойством биочернил является и размер пор, формируемых в напечатанных конструкциях при сшивании гидрогеля или при лиофилизации образцов. Малые размеры пор вызывают недостаток питания и поступления кислорода к клеткам, что приводит к замедлению их миграции и низкой жизнеспособности. Было изучено влияние размера пор гидрогеля желатина на поведение клеток. В результате исследования обнаружено, что при размере пор 580 мкм скорость пролиферации кожных фибробластов человека (HDF) через 14 сут увеличилась на 14% по сравнению с порами 435 мкм [36]. Еще одним плюсом использования природных биочернил

является их подходящая межмолекулярная сеть. Например, хорошо известно, что фибриллярный коллаген имеет подходящую структуру микро- и макропор, которая, как было обнаружено, активно способствует хорошему прикреплению и пролиферации клеток, что в итоге повышает их жизнеспособность [33].

Немаловажным параметром биочернил является концентрация их основного структурообразующего компонента. Этот параметр решающим образом влияет на жизнеспособность клеток, поскольку высокие концентрации приводят к уплотнению клеток и, как следствие, снижают их жизнеспособность. Оценка влияния использования различных концентраций коллагена марки Viscoll на жизнеспособность клеток показала, что снижение концентрации коллагена с 4 до 2% привело к увеличению жизнеспособности клеток с $87,2 \pm 2,1$ до $97,2 \pm 1,2\%$ ($p < 0,05$) [27].

Группа авторов изучала влияние использования экстракта коллагена меньшей молекулярной массы на жизнеспособность клеток линии эмбриональных фибробластов мыши (NIH 3T3) и обнаружила, что снижение концентрации экстракта со 100 до 25% повышает жизнеспособность клеток с $85,07 \pm 6,73$ до $111,31 \pm 3,65\%$ ($p < 0,05$) [33]. Еще одно исследование было направлено на изучение влияния смешивания небольших концентраций GelMA с нанофибриллами целлюлозы (CNF) на пролиферацию клеток. Было обнаружено, что через три дня после культивирования на композитных биочернилах CNF/GelMA выявлено в два раза больше клеток по сравнению с биочернилами только из CNF [24].

Плотность клеточной суспензии является еще одним критическим фактором, поскольку, как описывалось ранее, использование клеток в повышенном количестве (более 1 млн клеток на 1 мл) приводит к снижению их жизнеспособности. Существуют данные об использовании системы струйной биопечати и изучении влияния использования различных плотностей клеточной суспензии и размера капель на жизнеспособность клеток.

Исследование показало, что жизнеспособность клеток варьирует пропорционально плотности клеточной суспензии и обратно пропорциональна пространству между каплями, как для кератиноцитов, так и для фибробластов кожи. При очень низкой плотности клеточной суспензии (0,5 млн клеток/мл) и большом расстоянии между каплями (400 нм) жизнеспособность фибробластов была умеренной (84%). Вероятно, это связано с отсутствием межклеточной связи при относительно низком покрытии поверхности. Аналогичным образом при высокой плотности суспензии клеток (5 млн клеток/мл) и малом расстоянии между каплями при печати

(400 мкм) жизнеспособность кератиноцитов оказалась равной. Самые высокие показатели жизнеспособности клеток (98–99%) удалось добиться при использовании плотности клеточной суспензии равной 1–2 млн клеток/мл и расстояния между каплями 200 нм [40]. Более того, на адгезию клеток существенным образом влияет и толщина напечатанной конструкции. В образцах толщиной 3 мм наблюдался более высокий процент прикрепления клеток, чем в образцах толщиной 2 мм. Каркас большой толщины способствовал слипанию клеток [31].

Однако нельзя недооценивать факторы роста – важные морфогенетические белки, которые влияют на активность клеток и направляют восстановление и регенерацию тканей [51]. Опубликованы данные, что добавление 100 нг/мл фактора роста фибробластов (FGF2) к биочернилам значительно увеличивает скорость пролиферации (от ~40 до ~75%), улучшает морфологию конструкции, приближая по структуре к нативной ткани и ускоряя сборку собственных коллагеновых фибрилл, ответственных за формирование внеклеточного матрикса кожи [38].

СТРУКТУРА И МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛУЧЕННЫХ БИОИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Материалы, используемые для биопечати, должны обладать приемлемыми механическими свойствами и не разрушаться после печати. Они также должны иметь высокий коэффициент набухания, чтобы поддерживать влаго- и воздухообмен в области раны, обмен веществ и пролиферацию клеток. По литературным данным, человеческая кожа имеет средний модуль упругости от 100 до 1 100 кПа [34]. Степень набухания имеет обратную связь со значениями модуля Юнга. Однако увеличение расстояния между волокнами суспензии децеллюляризованной подслизистой оболочки тонкой кишки (dSIS) с 500 до 700 мкм увеличивает степень набухания с 69 до 79% и снижает модуль Юнга с $26,6 \pm 3,8$ до $9,7 \pm 3,1$ кПа ($p < 0,05$) [25]. Похожие результаты были получены при использовании сшитого раствора нанофибрилл целлюлозы (CNF) [31] и сшитого раствора альгината с желатином [32].

Биочернила должны сохранять свою форму после выхода из кончика печатного сопла. В целом, правильная вязкость гидрогеля обеспечивает высокую точность формы и сводит к минимуму возможность структурного разрушения после печати [39]. Сдвиговое истончение является еще одним важным параметром. Биочернила должны обладать строго определенным тиксотропным эффектом, чтобы избежать

засорения сопла во время экструзии и обеспечить восстановление структурной консистенции после печати, а также быть готовыми к нанесению следующего слоя [23, 28, 31]. Например, коллагену требуется примерно 1 мин, чтобы обеспечить переход в гелеобразное состояние и сохранить прочную основу для печати следующего слоя [40]. Кроме того, оказалось, что жесткость напечатанных каркасов значительно влияет на пролиферацию клеток, например, по мере увеличения жесткости CNF в диапазоне 3–8 кПа пролиферация клеток ускорилась [31].

ЛЕЧЕНИЕ РАН НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ

Высокая скорость заживления ран имеет решающее значение, чтобы избежать затягивания сроков лечения и формирования гипертрофических рубцов. Успех использования нового материала в качестве средства лечения ран в первую очередь определяется высокой биосовместимостью и отсутствием цитотоксичности *in vitro*. При дальнейшем изучении рассматриваемый материал должен стимулировать заживление ран и реэпителизацию тканей *in vivo*. Использование биопечатных конструкций с добавлением линий клеток человека позволяет добиться ускорения заживления ран (на животной модели) примерно на 3 нед по сравнению с другими методами [30].

Имплантация кожных конструкций с правильными размером и структурой пор существенно влияли на снабжение питанием и рост клеток в области раны [29]. Равномерное и как можно более раннее нанесение напечатанного покрытия позволяет максимально снизить формирование рубцовой ткани в области раны. Опубликованы данные о том, что нанесение каркаса из желатин-сульфированного композита шелка, содержащего фактор роста фибробластов (G-SF-SO₃-FGF2) на спину раненых крыс, позволило сгладить рану после операции, а результаты поперечных срезов показали полное закрытие раны в дополнение к наличию большего количества кровеносных сосудов [38]. Кроме того, при гистологическом исследовании поперечного сечения раны, обработанной SS/GelMA, через 7 сут после операции наблюдалось образование нового коллагена с высокой пролиферацией фибробластов, аналогичное здоровой ткани, с последующим полным закрытием раны на 4-й нед [37].

Нельзя забывать, что для интеграции новой ткани или органа в окружающую ткань или полость биообъекта необходима соответствующая васкуляризация. Для решения этой проблемы исследователи прибегают к различным методикам, таким как добавление ростовых факторов, стимулирующих васкуляризацию [38], печать с использованием сети

взаимосвязанных пор размером от 50 до 500 мкм и микропор диаметром менее 10 мкм [33] или путем использования децеллюляризованного внеклеточного матрикса кожи [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящий обзор демонстрирует анализ научных исследований, проведенных как *in vitro* на клеточных культурах, так и *in vivo* на животных, направленных на поиск возможности создания заменителя кожи с помощью 3D-биопечати. Прежде всего, данный обзор подтверждает значительные преимущества использования экструзионной биопечати с использованием природных биополимеров для восстановления и регенерации кожи. Большинство полученных с использованием этой технологии образцов продемонстрировали превосходную способность имитировать трехмерную структуру микроокружения нативной ткани кожи и способствовать адгезии, пролиферации и миграции клеток. Визуализация *in vivo* показала, что использование биопечатной конструкции с хорошо организованными дермальным и эпидермальным слоями обеспечивает полное закрытие раны через четыре недели после операции. Кроме того, следует отметить высокую значимость различных свойств биочернил в связи с их существенным влиянием на ускорение процесса заживления ран.

Несмотря на ограниченное количество проведенных исследований, биопечать *in situ* является одним из наиболее многообещающих достижений в инженерии тканей кожи, которое может быть использовано хирургами для эффективной и быстрой печати сложных органов. Тем не менее основная проблема заключается в сложности точного построения деталей ткани, что требует для своего решения интеграции различных областей науки, включая не только медицину и биологию, но и инженерию, химию и даже IT-технологии. Кроме того, некоторые новые методы сшивки полимеров, такие как двухфотонная сшивка и направленное на кончик сопла УФ-излучение, могут способствовать повышению скорости и точности печати уже существующими биочернилами. Подготовленные к васкуляризации каркасы представляют особый интерес, поскольку после печати сохраняют свою предваскуляризованную микроструктуру и даже при использовании их без клеток быстро заселяются аутологичными клетками благодаря стимуляции регенеративных процессов реципиента.

К сожалению, использование 3D-биопечати для заживления ран все еще изучается на животных, метаанализ доступной литературы не обнаружил рандомизированных клинических испытаний на людях.

Еще одной важной проблемой является то, что время наблюдения и измерения, линии использованных клеток, вид и количество использованных животных, тяжесть и площадь нанесенных ран, метод их нанесения различаются в разных исследованиях, что приводит к высокой неоднородности результатов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sen C.K. Human wounds and its burden: an updated compendium of estimates. *Adv. Wound Care*. 2019;8(2):39–48. DOI: 10.1089/wound.2019.0946.
2. Beldon P. Basic science of wound healing. *Surgery*. 2010;28(9):409–412. DOI: 10.1016/j.mpsur.2010.05.007
3. Dhivya S., Padma V.V., Santhini E. Wound dressings – a review. *BioMedicine*. 2015;5(4):22. DOI: 10.7603/s40681-015-0022-9.
4. Chouhan D., Dey N., Bhardwaj N., Mandal B.B. Emerging and innovative approaches for wound healing and skin regeneration: status and advances. *Biomaterials*. 2019;216:119267. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119267.
5. Ferry P.W. Melchels, Marco A.N. Domingos, Travis J. Klein, Jos Malda, Paulo J. Bartolo, Dietmar W. Hutmacher. Additive manufacturing of tissues and organs. *Prog. Polym. Sci.* 2012;37(8):1079–1104. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.11.007.
6. He P., Zhao J., Zhang J., Li B., Gou Z., Gou M., Li X. Bioprinting of skin constructs for wound healing. *Burn. Trauma*. 2018;6:5. DOI: 10.1186/s41038-017-0104-x.
7. Groll J., Burdick J.A., Cho D.W., Derby B. Gelinsky M., Heilshorn S.C., Jüngst T. et al. A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication*. 2019;11(1):013001. DOI: 10.1088/1758-5090/aacc52.
8. Cui H., Nowicki M., Fisher J.P., Zhang L.G. 3D bioprinting for organ regeneration. *Advanced Healthcare Materials*. 2017;6(1):1601118. DOI: 10.1002/adhm.201601118.
9. Gopinathan J., Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomater. Res*. 2018;22:1–15. DOI: 10.1186/s40824-018-0122-1.
10. Panwar A., Tan L.P. Current status of bioinks for micro-extrusion-based 3D bioprinting. *Molecules*. 2016;21(6):685. DOI: 10.3390/molecules21060685.
11. Xia Z., Jin S., Ye K. Tissue and organ 3D bioprinting. *SLAS Technol*. 2018;23(4):301–314. DOI: 10.1177/2472630318760515.
12. Ng W.L., Wang S., Yeong W.Y., Naing M.W. Skin bioprinting: impending reality or fantasy? *Trends Biotechnol*. 2016;34(9):689–699. DOI: 10.1016/j.tibtech.2016.04.006.
13. Kumar A., Starly B. Large scale industrialized cell expansion: Producing the critical raw material for biofabrication processes. *Biofabrication*. 2015;7(4):44103. DOI: 10.1088/1758-5090/7/4/044103.
14. Griffith L.G., Swartz M.A. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2006;7(3):211–224. DOI: 10.1038/nrm1858.
15. Ahmed E.M. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: A review. *J. Adv. Res*. 2015;6(2):105–121. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
16. Yamamoto M., James D., Li H., Butler J., Raffi S., Rabbany S. Generation of stable co-cultures of vascular cells in a honeycomb alginate scaffold. *Tissue Engineering. Part A*. 2010;16(1):299–308. DOI: 10.1089/ten.TEA.2009.0010.
17. Thomas B.H., Craig Fryman J., Liu K., Mason J. Hydrophilic-hydrophobic hydrogels for cartilage replacement. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2009;2(6):588–595. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2008.08.001.
18. Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices*. 2011;8(5):607–626. DOI: 10.1586/erd.11.27.
19. Montero F.E., Rezende R.A., da Silva J.V., Sabino M.A. Development of a smart bioink for bioprinting applications. *Front. Mech. Eng*. 2019;5(56):1–12. DOI: 10.3389/fmech.2019.00056.
20. Valot L., Martinez J., Mehdi A., Subra G. Chemical insights into bioinks for 3D printing. *Chem. Soc. Rev*. 2019;48(15):4049–4086. DOI: 10.1039/C7CS00718C.
21. Kim J.E., Kim S.H., Jung Y. Current status of three-dimensional printing inks for soft tissue regeneration. *Tissue Eng. Regen. Med*. 2016;13(6):636–646. DOI: 10.1007/s13770-016-0125-8.
22. Liberati A., Altman D.G., Tetzlaff J., Mulrow C., Gøtzsche P.C., Ioannidis J.P. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: Explanation and elaboration. *J. Clin. Epidemiol*. 2009;62(10):e1–34. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2009.06.006.
23. Heidenreich A.C., Pérez-Recalde M., González Wusener A., Hermida É.B. Collagen and chitosan blends for 3D bioprinting: A rheological and printability approach. *Polym. Test*. 2020;82:106297. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2019.106297.
24. Xu W., Molino B.Z., Cheng F., Molino P.J., Yue Z., Su D. et al. On low-concentration inks formulated by nanocellulose assisted with gelatin methacrylate (GelMA) for 3D printing toward wound healing application. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2019;11(9):8838–8848. DOI: 10.1021/acsami.8b21268.
25. Chen X., Yue Z., Winberg P.C., Dinoro J.N., Hayes P., Beirne S., Wallace G.G. Development of rhamnose-rich hydrogels based on sulfated xylorhamno-uronic acid toward wound healing applications. *Biomater. Sci*. 2019;7(8):3497–3509. DOI: 10.1039/C9BM00480G.
26. Shi L., Hu Y., Ullah M.W., Ullah I., Ou H., Zhang W. et al. Cryogenic free-form extrusion bioprinting of decellularized small intestinal submucosa for potential applications in skin tissue engineering. *Biofabrication*. 2019;11(3):035023. DOI: 10.1088/1758-5090/ab15a9.
27. Osidak E.O., Karalkin P.A., Osidak M.S., Parfenov V.A., Sivogrivov D.E., Pereira F.D.A.S. et al. Viscoll collagen solution as a novel bioink for direct 3D bioprinting. *J. Mater. Sci. Mater. Med*. 2019;30(3):31. DOI: 10.1007/s10856-019-6233-y.
28. Liu P., Shen H., Zhi Y., Si J., Shi J., Guo L. et al. 3D bioprinting and in vitro study of bilayered membranous construct with human cells-laden alginate/gelatin composite hydrogels. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2019;181:1026–1034. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.06.069.
29. Huang L., Du X., Fan S., Yang G., Shao H., Li D. et al.

- Bacterial cellulose nanofibers promote stress and fidelity of 3D-printed silk based hydrogel scaffold with hierarchical pores. *Carbohydr. Polym.* 2019;221:146–156. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.05.080.
30. Albanna M., Binder K.W., Murphy S.V., Kim J., Qasem S.A., Zhao W. et al. *In situ* bioprinting of autologous skin cells accelerates wound healing of extensive excisional full-thickness wounds. *Sci. Rep.* 2019;9(1):1–15. DOI: 10.1038/s41598-018-38366-w.
 31. Xu C., Zhang Molino B., Wang X., Cheng F., Xu W., Molino P. et al. 3D printing of nanocellulose hydrogel scaffolds with tunable mechanical strength towards wound healing application. *J. Mater. Chem. B.* 2018;6(43):7066–7075. DOI: 10.1039/C8TB01757C.
 32. Shi L., Xiong L., Hu Y., Li W., Chen Z.C., Liu K. et al. Three-dimensional printing alginate/gelatin scaffolds as dermal substitutes for skin tissue engineering. *Polym. Eng. Sci.* 2018;58(10):1782–1790. DOI: 10.1002/pen.24779.
 33. Nocera A.D., Comín R., Salvatierra N.A., Cid M.P. Development of 3D printed fibrillar collagen scaffold for tissue engineering. *Biomed. Microdevices.* 2018;20(2):1–13. DOI: 10.1007/s10544-018-0270-z.
 34. Kim B.S., Kwon Y.W., Kong J.S., Park G.T., Gao G., Han W. et al. 3D cell printing of *in vitro* stabilized skin model and *in vivo* pre-vascularized skin patch using tissue-specific extracellular matrix bioink: A step towards advanced skin tissue engineering. *Biomaterials.* 2018;168:38–53. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.040.
 35. Datta S., Sarkar R., Vyas V., Bhutoria S., Barui A., Chowdhury A.R. et al. Alginate-honey bioinks with improved cell responses for applications as bioprinted tissue engineered constructs. *J. Mater. Res.* 2018;33:2029–2039. DOI: 10.1557/jmr.2018.202.
 36. Dong J.C., Sang J.P., Bon K.G., Young-Jin K., Seok C., Chun-Ho K. Effect of the pore size in a 3D bioprinted gelatin scaffold on fibroblast proliferation. *J. Ind. Eng. Chem.* 2018;67:388–395. DOI: 10.1016/j.jiec.2018.07.013.
 37. Chen C.S., Zeng F., Xiao X., Wang Z., Li X.L., Tan R.W. et al. Three-dimensionally printed silk-sericin-based hydrogel scaffold: a promising visualized dressing material for real-time monitoring of wounds. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2018;10(40):33879–33890. DOI: 10.1021/acsami.8b10072.
 38. Xiong S., Zhang X., Lu P., Wu Y., Wang Q., Sun H. et al. A Gelatin-sulfonated silk composite scaffold based on 3D printing technology enhances skin regeneration by stimulating epidermal growth and dermal neovascularization. *Sci. Rep.* 2017;7(1):1–12. DOI: 10.1038/s41598-017-04149-y.
 39. Liu J., Chi J., Wang K., Liu X., Gu F. Full-thickness wound healing using 3D bioprinted gelatin-alginate scaffolds in mice: A histopathological study. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2016;9:11197–11205.
 40. Lee V., Singh G., Trasatti J.P., Bjornsson C., Xu X., Tran T.N. et al. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting. *Tissue Eng. Part C Methods.* 2014;20(6):473–484. DOI: 10.1089/ten.tec.2013.0335.
 41. Guillemot F., Mironov V., Nakamura M. Bioprinting is coming of age: report from the international conference on bio printing and bio fabrication in Bordeaux (3B'09). *Biofabrication.* 2010;2(1):010201. DOI: 10.1088/1758-5082/2/1/010201.
 42. Peltola S.M., Melchels F.P., Grijpma D.W., Kellomäki M. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Ann. Med.* 2008;40(4):268–280. DOI: 10.1080/07853890701881788.
 43. Malda J., Visser J., Melchels F.P., Jüngst T., Hennink W.E., Dhert W.J. et al. 25th anniversary article: Engineering hydrogels for biofabrication. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.).* 2013;25(36):5011–5028. DOI: 10.1002/adma.201302042.
 44. Chang R., Nam J., Sun W. Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication-based direct cell writing. *Tissue Eng. Part A.* 2008;14(1):41–48. DOI: 10.1089/ten.a.2007.0004.
 45. Gaspar-Pintilieşcu A., Stefan L.M., Anton E.D., Berger D., Matei C., Negreanu-Pirjol T. et al. Physicochemical and biological properties of gelatin extracted from marine snail *Rapana venosa*. *Marine Drugs.* 2019;17(10):589. DOI: 10.3390/md17100589.
 46. Chiou B., Avena-Bustillos R.D., Bechtel P.J., Jafri H., Narayan R., Imama S.H. et al. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. *European Polymer Journal.* 2008;44(11):3748–3753. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2008.08.011.
 47. Sakai S., Hirose K., Taguchi K., Ogushi Y., Kawakami K. An injectable, *in situ* enzymatically gellable, gelatin derivative for drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials.* 2009;30(20):3371–3377. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.03.030.
 48. Jung H., Pena-Francesch A., Saadat A., Sebastian A., Kim D.H., Hamilton R.F. et al. Molecular tandem repeat strategy for elucidating mechanical properties of high-strength proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2016;113(23):6478–6483. DOI: 10.1073/pnas.1521645113.
 49. Ozbolat I.T., Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials.* 2016;76:321–343. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.076.
 50. Dzobo K., Motaung K.S.C.M., Adesida A. Recent trends in decellularized extracellular matrix bioinks for 3D printing: An updated review. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(18):4628. DOI: 10.3390/ijms20184628.
 51. Mitchell A.C., Briquez P.S., Hubbell J.A., Cochran J.R. Engineering growth factors for regenerative medicine applications. *Acta Biomater.* 2016;30:1–12. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.11.007.

Вклад авторов

Все авторы приняли участие в разработке концепции и дизайна исследования; первичном поиске, анализе и интерпретации данных, проверке критически важного интеллектуального содержания и окончательном утверждении для публикации рукописи.

Информация об авторах

Барсук Илья Александрович – адъюнкт при научно-исследовательском отделе (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, barsuk20220@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3728-9966>

Головко Константин Петрович – д-р мед. наук, доцент, начальник научно-исследовательского центра, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, labws@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1584-1748>

Александров Виктор Николаевич – д-р мед. наук, профессор, начальник научно-исследовательской лаборатории (тканевой инженерии) научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, vnaleks9@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0001-9229-5293>

Хасанов Артур Ришатович – адъюнкт при научно-исследовательском отделе (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра ВМедА им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, khasartrish@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0003-0763-7194>.

Эдгеев Наран Игоревич – начальник хирургического отделения филиала № 4 1469-го военно-морского клинического госпиталя, г. Заозерск, luxomjashok@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0006-4989-2523>

Галиуллин Ринат Ильмирович – старший ординатор хирургического отделения филиала № 4 1469-го военно-морского клинического госпиталя, г. Заозерск, rinat061989@list.ru, <http://orcid.org/0009-0008-6079-956X>

(✉) **Барсук Илья Александрович**, barsuk20220@gmail.com

Поступила в редакцию 07.11.2023;
одобрена после рецензирования 25.03.2024;
принята к публикации 14.05.2024

УДК 616-006-085.277.3:578.7:615.03
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-158-168>

Клинические исследования онколитических вирусов

Головинов И.В.¹, Гончарова А.С.¹, Шульга А.А.¹, Власов С.Н.², Димитриади С.Н.¹

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

² Ростовский государственный медицинский университет (РостГМУ)
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

РЕЗЮМЕ

Онколитические вирусы (ОВ) – это новый класс таргетных противоопухолевых препаратов, обладающих уникальными механизмами действия. Эволюция в области виротерапии прошла от использования штаммов, пассированных *in vitro* (первое поколение), к генно-инженерным вирусам с повышенной селективностью (второе поколение) и, в конечном итоге, к рекомбинантным ОВ, экспрессирующим трансгены (третье поколение).

Цель обзора заключалась в проведении анализа и обобщении данных о текущей ситуации в клинических исследованиях ОВ.

Поиск в PubMed за период с 1997 по 2024 г. выявил 182 статьи, из которых 154 предоставили данные о 4 850 пациентах. Согласно публикациям, аденовирус ($n = 44$) является наиболее распространенным ОВ в клинических исследованиях, причем более двух третей ($n = 108$) использовали модифицированные или рекомбинантные вирусные основы с наиболее частым трансгеном в виде гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF; $n = 40$). Среди опухолей в большинстве случаев исследовались меланома ($n = 1\,997$) и рак желудочно-кишечного тракта (ЖКТ; $n = 916$) с использованием преимущественно монотерапии ОВ через внутриопухолевое ($n = 3\,003$) или внутривенное ($n = 1\,318$) введение. Часто встречающаяся комбинация включала химиотерапию ($n = 54$).

Нежелательными явлениями, связанными с лечением ОВ, были конституциональные симптомы низкой степени тяжести и местные реакции в месте инъекции. Часто проводили измерения выделения вируса, однако во многих исследованиях ограничивались анализом крови и опухолевой ткани, применяя только полимеразную цепную реакцию. Несмотря на то, что в большинстве работ сообщали о титрах противовирусных антител ($n = 101$), лишь в некоторых были отмечены вирусспецифические Т-клеточные ответы ($n = 23$). Объективные ответы (ORR, objective response rate) были зафиксированы у 458 (9,4%) пациентов, а контроль заболевания достигался у 1 141 (23,5%) больного, хотя стандартные критерии отчетности использовались лишь в 60,4% случаев.

Эти данные дают представление о текущем состоянии клинических исследований ОВ и выявляют потенциальные области, требующие дальнейшего изучения для более четкого определения роли ОВ в лечении рака.

Ключевые слова: онколитический вирус, иммунотерапия, виротерапия, клинические исследования, клинические испытания

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: Головинов И.В., Гончарова А.С., Шульга А.А., Власов С.Н., Димитриади С.Н. Клинические исследования онколитических вирусов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):158–168. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-158-168>.

Clinical trials on oncolytic viruses

Golovinov I.V.¹, Goncharova A.S.¹, Shulga A.A.¹, Vlasov S.N.², Dimitriadi S.N.¹

¹ National Medical Research Center for Oncology
63, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

² Rostov State Medical University
29, Nakhichevanskiy Av., Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation

ABSTRACT

Oncolytic viruses (OVs) are a new class of targeted anticancer drugs with unique mechanisms of action. Oncolytic virotherapy has evolved from the use of in vitro-passaged strains (first generation) to genetically engineered viruses with increased selectivity (second generation) and, ultimately, to recombinant OVs expressing a transgene (third generation).

The aim of the review was to analyze and summarize data on the current state of clinical research on OVs.

A PubMed search identified 182 articles from 1997 to 2024 with 154 studies reporting data on 4,850 patients. We found that adenovirus ($n = 44$) is the most common OV in clinical trials with more than two-thirds ($n = 108$) using modified or recombinant viral backbones, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF; $n = 40$) was the most common transgene. The most common tumors targeted were melanoma ($n = 1,997$) and gastrointestinal (GI; $n = 916$) cancers with the most common monotherapy received by intratumoral ($n = 3,003$) or intravenous ($n = 1,318$) delivery routes. The most common combination included chemotherapy ($n = 54$).

Treatment-related adverse events included low-grade constitutional symptoms and local injection site reactions. Measurements of virus shedding were frequently performed, but many studies were limited to blood and tumor tissue analysis, using only polymerase chain reaction (PCR). Although most studies reported antiviral antibody titers ($n = 101$), only a few reported virus-specific T-cell responses ($n = 23$). Objective responses were recorded in 458 (9.4%) patients and disease control was achieved in 1,141 (23.5%) patients, although standard reporting criteria were used in only 60.4% of cases.

These data provide an insight into the current state of clinical research on OVs and highlight potential areas requiring further investigation to better define the role of OVs in cancer treatment.

Keywords: oncolytic virus, immunotherapy, virotherapy, clinical research, clinical trials

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

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

For citation: Golovinov I.V., Goncharova A.S., Shulga A.A., Vlasov S.N., Dimitriadi S.N. Clinical trials on oncolytic viruses. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):158–168. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-158-168>.

ВВЕДЕНИЕ

В области лечения рака постоянно развиваются новые терапевтические стратегии для борьбы со сложной и гетерогенной природой этого серьезного заболевания [1, 2]. Среди инновационных подходов, набирающих популярность, – онколитическая вирусная терапия. Это новое направление, которое использует потенциал вирусов избирательно воздействовать и уничтожать опухолевые клетки, сохраняя при этом здоровые ткани. Данный метод лечения представляет собой многообещающую стратегию в борьбе с раком, демонстрируя многогранные механизмы, которые вызывают прямой лизис опухоли,

стимулируют противоопухолевые иммунные реакции и повышают эффективность традиционных методов лечения [3–5].

Онколитическая вирусная терапия основана на использовании естественных или модифицированных рекомбинантных вирусов, сконструированных с помощью генно-инженерных методов, для инфицирования, репликации и уничтожения злокачественных клеток. Эти вирусы разработаны таким образом, чтобы использовать уязвимости и генетические аномалии, характерные для опухолевых клеток, и уничтожать их, минуя здоровые ткани. Избирательность действия этих вирусов в отношении опухолевых клеток часто достигается путем различных генетиче-

ских модификаций, которые делают их неспособными к репликации в здоровых тканях, что повышает их безопасность для клинического применения [6].

Перед исследованиями на людях селективность, цитотоксичность, биораспределение и репликацию вируса можно изучить на клеточных линиях *in vitro* и на моделях животных [7, 8]. Результаты животных моделей могут в определенной степени предсказать реакцию у пациентов [9].

За последние десятилетия изучение онколитической вирусной терапии перешло от доклинических исследований к многочисленным клиническим испытаниям, что говорит о переходе от теоретических размышлений к конкретному терапевтическому потенциалу. В настоящее время, по данным сайта Clinicaltrials.gov, проводится 107 клинических исследований, из которых 89 находятся на стадии набора участников. Эти клинические испытания включают различные типы рака и многочисленные онколитические вирусы (ОВ) с разнообразными механизмами действия и стратегиями доставки. Результаты этих исследований играют важную роль в понимании безопасности, эффективности и проблем, связанных с применением онколитической вирусной терапии как жизнеспособного метода лечения рака [10, 11].

Цель исследования: обзор текущей ситуации в клинических исследованиях онколитической вирусной терапии.

МЕТОДЫ ПОИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Был проведен систематический литературный поиск с использованием базы данных PubMed по ключевым словам *oncolytic virus* и *oncolytic viruses*. Поиск был ограничен клиническими и рандомизированными клиническими исследованиями. С использованием этих критериев было идентифицировано и отобрано для изучения 182 статьи. Из них 154 содержали оригинальные отчеты о данных клинических испытаний с использованием ОВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Онколитические вирусы в клинических исследованиях

При проведении литературного поиска было выявлено 154 клинических исследования, охватывающих период с 1997 по 2024 г., в которых сообщалось о применении ОВ. В этих исследованиях принимали участие 4 850 пациентов с различными формами злокачественных новообразований (таблица). Большинство исследований относились к фазе I ($n = 86$; 55,8%), что свидетельствует о новизне метода онколитической вирографии и может указывать на то, что отрицательные результаты исследований

на более поздних стадиях могли быть не опубликованы, что тем самым упускает возможность более полного понимания эффективности лечения ОВ у пациентов больных раком.

Также было отмечено 15 (9,7%) исследований фазы I/II, 28 (18,2%) исследований фазы II, а 20 (13,0%) клинических исследований не были четко классифицированы, но в основном представляли собой исследования ранней фазы или первые клинические исследования на людях. Исследования фазы III ($n = 5$) составили примерно 3% от общего числа исследований. Однако даже если препарат переходит на III фазу клинических испытаний, существует риск неудачи. Например, 2 августа 2019 г. Labiotech сообщил о завершении III фазы клинического исследования Реха-Вес (JX-594), генетически модифицированного вируса коровьей оспы, экспрессирующего *GM-CSF*, а также лишённого гена тимидинкиназы, для лечения рака печени, ожидавшего завершения в 2020 г. Промежуточный анализ показал, что, хотя эффективность Реха-Вес в сочетании с сорафенибом была выше, чем при монотерапии сорафенибом, вероятность продления выживаемости пациентов оказалась низкой. Поэтому исследование было признано неудачным и досрочно прекращено [12]. Таким образом, основное внимание в текущей литературе сосредоточено на клинических исследованиях ранней фазы.

Таблица

Характеристики пациентов в клинических исследованиях ОВ	
Характеристика	<i>n</i>
<i>Локализация опухоли</i>	
Мозг	377
Молочная железа	156
Желудочно-кишечный тракт	916
Мочеполовая система	245
Гинекологические опухоли	219
Голова и шея	198
Легкие	297
Меланома	1 997
Саркома	148
Другие солидные опухоли	204
Гематологические опухоли	93
<i>Способ доставки</i>	
Внутриопухолевый	3 003
Внутривенный	1 318
Несколько	122
Другой	407
<i>Фаза исследования</i>	
I	1 793
I/II	345
II	1 317
III	932
Не указана	463

Множество ДНК- и РНК-вирусов может служить в качестве ОВ. В большинстве клинических исследований, включенных в обзор, применялись ДНК-вирусы, что отражает преимущество их более крупного и стабильного генома, упрощающее генную инженерию и

добавление нескольких трансгенов (рис.) [13]. Наиболее распространенными вирусами были аденовирус ($n = 44$; 28,6%), за которым следовали вирус простого герпеса первого типа (ВПГ-1; $n = 37$; 24,0%), реовирус ($n = 25$; 16,2%) и поксвирусы ($n = 18$; 11,7%).

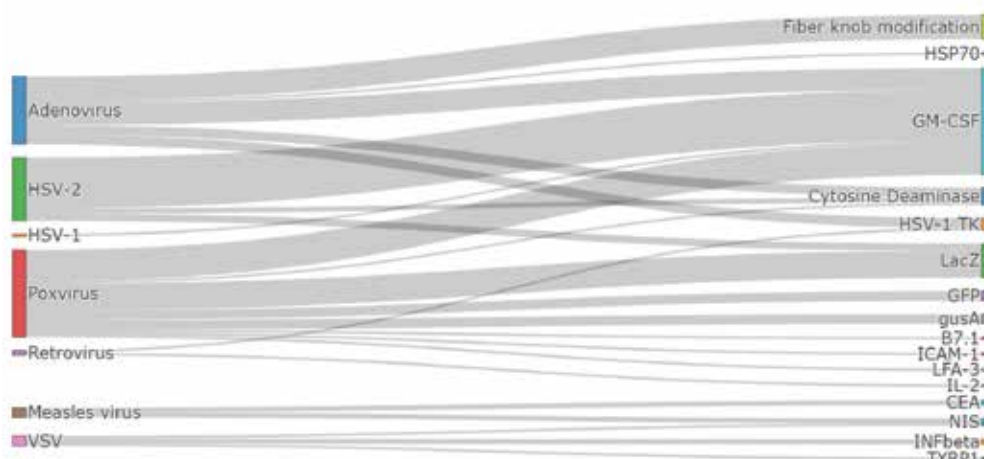


Рисунок. Трансгены, используемые в качестве полезной нагрузки для онколитических вирусов

Кроме того, было проведено еще шесть исследований (3,9%), в которых использовался вирус Коксаки, по пять исследований (3,2%) с применением вируса болезни Ньюкасла и вируса кори, а также четыре исследования (2,6%) с использованием парвовируса. Некоторые клинические исследования упоминали другие вирусы, такие как вирус долины Сенека, вирус Сендай, вирус везикулярного стоматита (ВВС), вирус простого герпеса второго типа (ВПГ-2), ретровирус и химеру риновируса и полиовируса. Однако ни в одном из опубликованных исследований не использовалось более одного типа ОВ.

Существует проблема инсерционного мутагенеза – интеграции экзогенной последовательности ДНК вируса в геном организма-хозяина [14]. Это явление может быть безвредным, однако также может привести к трансформации клеток-хозяев и даже вызвать онкогенез. Риск инсерционного мутагенеза зависит от характеристик вируса. Например, РНК-вирусы без фазы ДНК, а также вирусы, реплицирующиеся в цитозоле, не представляют в этом отношении никакого риска. Безопасными в этом плане считается ряд вирусов, таких как эховирусы, вирус коровьей оспы, вирус Коксаки и вирус болезни Ньюкасла. Несмотря на то что ВПГ-1 реплицируется в ядре, было показано, что он не вызывает инсерционного мутагенеза [15]. Векторы аденовируса 5-го типа также безопасны благодаря эписомальной природе ДНК [16].

Однако ретровирусы и лентивирусы печально известны своей способностью внедряться в геном клетки-хозяина. Хотя ретровирус представляет со-

бой вирус с одноцепочечной РНК, попав в цитоплазму клетки, геномная РНК превращается в провирусную двухцепочечную ДНК, которая впоследствии транслоцируется в ядро. Несмотря на то, что ретровирусы и лентивирусы являются довольно популярными векторами для генной терапии, риск генотоксичности по-прежнему преобладает [17]. Поэтому перед началом исследований по разработке вируса важно тщательно изучить его происхождение.

Примерно в одной трети клинических исследований ($n = 46$) использовался вирус дикого типа, тогда как в двух третях исследований ($n = 108$) применялись генетически модифицированные вирусы. Модификации заключались в основном в удалении не существенных вирусных генов для стимулирования избирательной репликации в опухолевых клетках и ослабления вирусной патогенности. В 69 клинических испытаниях генетические модификации также включали экспрессию одного или нескольких трансгенов с использованием 101 рекомбинантного гена (см. рис.). Наиболее распространенный трансген – *GM-CSF* ($n = 40$; 26,2%), который стимулирует пролиферацию, дифференцировку и миграцию макрофагов и дендритных клеток, что способствует генерации адаптивных иммунных реакций путем содействия перекрестному представлению опухолевых антигенов [18].

Следующими наиболее часто экспрессируемыми трансгенами были гены, используемые для селекции рекомбинантных вирусов и их идентификации после заражения хозяина: *LacZ* ($n = 16$), который кодиру-

ет бактериальную β -галактозидазу, и *GUSB* ($n = 4$), кодирующий β -глюкуронидазу. Было использовано также по семь вирусов, кодирующих гены ферментов-пролекарств, таких как цитозиндезаминаза ($n = 7$) и тимидинкиназа ВПГ-1 ($n = 7$), которые преобразуют нетоксичное пролекарство в цитотоксичное средство. Другие трансгены включали гены, усиливающие иммунитет, такие как интерлейкин-2 (*IL-2*; $n = 1$), интерферон-бета (*IFN β* ; $n = 2$), ген антигена 3, ассоциированного с функцией лимфоцитов (*LFA-3*; $n = 1$), ген костимулирующей молекулы *B7.1* ($n = 1$) и ген молекулы межклеточной адгезии 1 (*ICAM-1*; $n = 1$).

Кроме того, в одном исследовании использовались трансгены, кодирующие белок теплового шока 70 (*HSP70*), в двух исследованиях – ген карциноэмбрионального антигена (*CEA*), который позволяет контролировать репликацию вируса путем измерения *CEA* в крови, в трех исследованиях – симпортер йодида натрия (*NIS*), который использовался для визуализации биораспределения и репликации вируса с использованием КТ и повышения чувствительности клеток к лучевой терапии, и ген белка, связанного с тиразинкиназой 1 (*TYRPI*). Наконец, в 10 исследованиях использовались аденовирусы, экспрессирующие модифицированные волокна типа 5, предназначенные для усиления проникновения вирусных клеток [19].

Выбор наилучшего вируса и подходящих трансгенов должен опираться на дальнейший биологический анализ опухолевых клеток, факторов, присутствующих организму-хозяину, а также механизмов, способствующих активации Th1 и CD8⁺ эффекторных иммунных ответов у Т-клеток. Исследования показали, что внутриклеточные сенсоры, вроде комплекса cGAS-STING и Toll-подобных рецепторов, играют решающую роль в индукции врожденного иммунитета опухолевыми клетками [20]. Интересно, что эти же сенсоры используются для распознавания ДНК- и РНК-вирусов, а статус этих внутриклеточных сенсоров при раке точно не определен [21].

ТИПЫ ОПУХОЛЕЙ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Клинические исследования ОВ охватывают широкий спектр опухолей, сфокусированных на большом числе пациентов больных раком (см. таблицу). В основном наиболее изучаемыми опухолями являются меланома и рак желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Исследования на пациентах с меланомой составляют 50 клинических испытаний с наибольшим числом пациентов ($n = 1\,997$), что объясняется относительной доступностью опухолей для местных

инъекций. Таким примером является клиническое исследование III фазы T-VEC, генетически модифицированного ВПГ-1, экспрессирующего *GM-CSF*, в котором участвовали 436 пациентов с меланомой [22]. С раком ЖКТ было связано 106 клинических исследований, в которых участвовали 916 пациентов. В таблице представлены различные локализации опухолей, на которые направлены клинические исследования, включая опухоли мочевого пузыря ($n = 43$), рак молочной железы и гинекологический рак ($n = 48$), саркомы ($n = 27$) и рак головы и шеи ($n = 23$).

По количеству пациентов, включенных в клинические исследования, наиболее распространенной была меланома, за ней следовали рак ЖКТ ($n = 916$; 18,9%), опухоли головного мозга ($n = 377$; 7,8%), рак легких ($n = 297$; 6,1%), рак мочевого пузыря ($n = 245$; 5,1%), гинекологический рак ($n = 219$; 7,7%), рак головы и шеи ($n = 198$; 4,1%) и рак молочной железы ($n = 156$; 3,2%). Также в исследование было включено 204 (4,2%) пациента с солидными опухолями, которые не были определены иным образом, а также 93 (1,9%) пациента с различными гематологическими злокачественными новообразованиями.

КОМБИНАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ

Из 154 рассмотренных исследований в 94 (61,0%) клинических исследованиях использовалась монотерапия ОВ, в то время как в 60 (39,0%) она применялась в сочетании по крайней мере с одним другим лечением или противоопухолевым препаратом. Среди комбинаций наиболее распространенными препаратами были цитотоксические химиотерапевтические агенты ($n = 54$; 35,1%) и ингибиторы контрольных иммунных точек ($n = 16$; 10,4%).

Другие методы, использованные в комбинированных исследованиях ОВ, включали лучевую терапию ($n = 9$; 5,8%), пролекарства химиотерапии ($n = 8$; 5,2%), ингибиторы тирозинкиназы ($n = 2$; 1,3%) и иммуномодулирующие факторы ($n = 1$; 0,6%). Среди наиболее распространенных химиотерапевтических препаратов были паклитаксел ($n = 9$) и циклофосфамид ($n = 8$), последний из которых применялся в качестве предварительной химиотерапии для стимулирования противоопухолевого иммунного ответа. Кроме того, гемцитабин использовался в шести исследованиях. Два исследования не давали ясного представления о типе химиотерапии. В восьми исследованиях ОВ сочетались с пролекарствами, включая четыре исследования с 5-фторцитозином, предшественником 5-фторурацила, три исследования с ганцикловиром и одно исследование с валганцикловиром.

Шестнадцать исследований сообщали о комбинации ОВ и ингибиторов иммунных контрольных точек. В пяти исследованиях использовались ипилимумаб и пембролизумаб. Два исследования оценивали комбинацию с бевацизумабом и по одному исследованию с ниволумабом, дурвалумабом, пукотенлимабом и тремелиумабом. Были также два исследования, в которых сообщалось о комбинации ОВ и ингибиторов тирозинкиназы – бортезомиба и эрлотиниба. В одном исследовании использовалась комбинация с интерлейкином-2.

Учитывая разнообразие солидных опухолей и их гетерогенность, можно предположить, что сочетание ОВ с другими методами лечения может максимизировать их эффективность. При разработке комбинированной терапии важно учитывать взаимодействие препаратов и последовательность их применения для минимизации возможных антагонистических эффектов. Химиотерапия может ингибировать синтез ДНК, митоз и деление клеток, а также вызывать повреждение ДНК. ОВ реплицируются в опухолевых клетках и способствуют индукции повреждений ДНК. Следовательно, комбинация ОВ с химиотерапией может синергически усилить противоопухолевый эффект [23, 24]. Комбинированная терапия, включающая ОВ и ингибиторы контрольных точек, представляет собой привлекательный подход. Онколитический вирус может привлекать проникающие в опухоль лимфоциты и стимулировать высвобождение опухолевых антигенов, сигналов опасности и провоспалительных цитокинов, что дополнительно увеличивает рекрутирование Т-клеток и способствует активации иммунных клеток. Вирусная инфекция также может увеличить экспрессию CTLA-4, PD-1 и других молекул иммунных контрольных точек, которые обычно блокируют активацию Т-клеток [25–27]. Комбинация лучевой терапии и ОВ также оказывает синергетический эффект на лечение опухоли [28].

В дополнение к текущим исследованиям, комбинирующим ОВ с ингибиторами контрольных точек, разрабатываются вирусы, способные производить собственные антитела. Например, для лечения глиобластомы разработан ВПГ-1, способный экспрессировать антитела к PD-1 [29]. Хотя пока эта конструкция была протестирована только на мышиных моделях, она представляет собой многообещающий пример усиления активности ОВ за счет вставки гена антител.

ПУТИ ВВЕДЕНИЯ

Выбор оптимального пути введения является спорным вопросом в клинической разработке ОВ, поэтому мы провели анализ использованных путей

введения в опубликованных клинических исследованиях. (см. таблицу). Наиболее распространенным способом оказалась внутриопухолевая инъекция, применяемая в 88 исследованиях (57,1%). Онколитические вирусы идеально подходят для прямого введения в опухоль, но количество и расположение опухолей может ограничить использование этого метода. Хотя внутриопухолевые инъекции обеспечивают прямое достижение опухоли, вирус может распределяться неравномерно внутри опухоли, что снижает его эффективность.

Внутривенная доставка была использована в 57 клинических исследованиях (37%). Она имеет потенциал для инфицирования метастатических поражений, но может ограничиваться разбавлением в крови и выведением из организма. Этот метод позволяет избежать сложностей локализации каждой опухоли, но существует риск недостаточной передачи вируса к месту опухоли, что снижает его эффективность [30].

Другие способы доставки включали в себя инфузию в печеночную артерию в пяти исследованиях (3,2%) и внутрибрюшинную доставку в восьми исследованиях (5,2%). Также были использованы следующие методы доставки: внутривезикулярная инъекция ($n = 3$), прямая инъекция в ложе удаленной опухоли ($n = 3$), доставка с усиленной конвекцией в ложе опухоли головного мозга (CED) ($n = 2$), внутрикожная инъекция ($n = 2$) и инфицирование опухолевых клеток *ex vivo* ($n = 1$). В двух исследованиях сообщалось об использовании доставки стволовых клеток. Не было сообщений о клинических испытаниях с использованием доставки нановезикул, хотя такие методы были описаны в доклинических исследованиях [31, 32].

В клинических исследованиях III фазы применялись только внутриопухолевые инъекции, что указывает на их основное значение для ОВ с высоким коммерческим потенциалом. Этот метод является более безопасным и обеспечивает прямое достижение вирусом цели. Существует интерес к поиску новых методов доставки, которые помогли бы избежать преждевременного выведения вируса и улучшили бы его биораспределение в опухолевых областях [33].

При анализе способов доставки по числу пациентов (см. таблицу), наиболее распространенными оказались внутриопухолевые ($n = 3\,003$; 61,9%) и внутривенные ($n = 1\,318$; 27,2%) инъекции. В одних и тех же исследованиях 122 пациента получали ОВ несколькими способами, в основном комбинируя внутривенное введение с внутриопухолевым. Еще 407 (8,4%) пациентов получили вирусы другими путями, как описано выше.

Внутриопухолевые инъекции чаще всего применялись при меланоме, раке предстательной железы и глиомах [34, 35]. В зависимости от местоположения и доступности опухолей вирус может быть доставлен однократно (например, в полость глиомы во время операции) или несколько раз, как при меланоме [36].

Доставка может также осуществляться внутривенно через периферическую внутривенную инъекцию или более целенаправленно путем инфузии в печеночную артерию при метастазах в печени [37]. Некоторые из преимуществ внутривенного введения включают простоту введения, стандартизацию дозировки, а также возможность многократного и длительного введения [38]. Однако основным недостатком этого способа до сих пор остается развитие нейтрализующих антител и клиренс вируса из крови.

Биораспределение вируса зависит от пути введения. Внутривенное введение обеспечивает наиболее широкое распространение вируса за счет кровообращения, что приводит к его поступлению в хорошо кровоснабжаемые органы, такие как печень, сердце, легкие, почки и мозг. Селезенка также характеризуется высокой концентрацией вируса, обусловленной высоким кровотоком и особенностями капиллярной системы, делающими ее особенно подверженной воздействию циркулирующих частиц. При местном введении вирус в основном концентрируется в органах, расположенных близко к месту введения [39].

ПРОФИЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ ОВ

В большинстве исследований, включенных в обзор, основное внимание уделялось оценке безопасности применения ОВ в клинической практике. Мы обнаружили, что большинство распространенных нежелательных явлений, связанных с лечением ОВ, представляли собой конституциональные симптомы низкой степени тяжести (1–2-й степени по шкале СТСАЕ) и местные реакции в месте инъекции. Наиболее распространенным нежелательным явлением была лихорадка, отмеченная в 96 исследованиях (80 исследований 1–2-й степени и 16 исследований 3–4-й степени). Другие часто встречающиеся легкие симптомы включали озноб ($n = 83$), тошноту и рвоту ($n = 67$), гриппоподобные симптомы ($n = 36$), усталость ($n = 52$) и боль ($n = 34$). В 43 исследованиях также отмечалась боль в месте инъекции. Нежелательные явления более серьезной степени (3-й степени и выше) включали тошноту и рвоту ($n = 12$), боль ($n = 11$), лихорадку ($n = 6$), усталость ($n = 6$) и гриппоподобные симптомы ($n = 3$).

В ходе клинических исследований было зарегистрировано 155 нежелательных явлений 3-й степени и 33 случая 4-й степени тяжести. Многие из этих со-

бытий были связаны с прогрессированием заболевания или действием других препаратов, применяемых в комбинированном лечении. Учитывая большое количество клинических исследований ранней фазы, в которые часто включаются пациенты на поздних стадиях, профиль безопасности ОВ представляется приемлемым. Большинство нежелательных явлений были сопоставимы при внутриопухолевом и внутривенном введении.

Существуют определенные проблемы безопасности при различных методах введения и риски при внутриартериальном введении ОВ. Они могут вызывать сильный иммунный ответ, а чрезмерная воспалительная реакция может привести к повреждению некоторых органов и в редких случаях – к смерти. Например, в 1999 г. 18-летний пациент умер после инъекции аденовируса в ветвь печеночной артерии. Во время аутопсии аденовирусные векторы и трансгены были обнаружены во всех органах пациента [40]. Это первое сообщение о смерти от генной терапии подчеркнуло риск и серьезные побочные эффекты. Поэтому при разработке препаратов ОВ для внутриартериального введения необходимо учитывать их безопасность и осторожно увеличивать дозировку для обеспечения эффективности. В настоящее время препараты ОВ для внутривенных инъекций в основном используются на ранних клинических стадиях (фаза I и II) и еще не достигли фазы III.

ВЫДЕЛЕНИЕ ОВ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Выделение вирусов от пациентов, прошедших лечение, может представлять опасность для окружающей среды и здоровья человека. Рекомендации FDA подробно описывают исследования выделения вирусов, включая планирование клинических испытаний, сбор и анализ данных о выделении. Они также отмечают, что выделение вирусов может зависеть от дозировки, поэтому исследование выделения следует проводить после фазы I, когда доза четко определена [41].

Ни в одном из рассмотренных исследований не сообщалось о передаче вирусной инфекции членам семьи или медицинскому персоналу. Из 154 опубликованных исследований в 122 (79,2%) проводилась оценка выделения вирусов, в то время как в 32 (20,8%) такой оценки не было.

Присутствие вируса в тканях играет ключевую роль в обеспечении доставки вируса к опухолевым участкам и понимании потенциальных мест его выделения. В 154 клинических исследованиях ОВ были оценены различные ткани и жидкости. Наиболее часто встречающимся местом выделения вирусов была

кровь или сыворотка (в 89 (57,8%) исследованиях). Затем следовало выделение в моче, отмеченное в 57 (37,0%) исследованиях, и образцах биопсии опухоли в 41 (26,6%) исследовании. Следующее по частоте было выделение в слюне или мазках из полости рта, отмеченное в 28 исследованиях (18,2%), и в образцах мокроты, сообщавшихся в 20 исследованиях (13,0%). В 41 исследовании были собраны другие жидкости или ткани, включая спинномозговую жидкость, смывы брoушины, места инъекций и т.д.

В 122 исследованиях, где проводилась оценка биовыделения вируса, были обнаружены доказательства присутствия вируса. Для обнаружения использовались различные методы анализа, причем наиболее распространенным оказался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), который позволяет обнаруживать специфические последовательности вирусного генома и применяется в 100 (82,0%) исследованиях. Анализ бляшек, обнаруживающий инфекционные вирусные частицы, был проведен отдельно в одном исследовании и в качестве дополнения к ПЦР-анализу в 21 (17,2%) опубликованном исследовании [42].

ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ИММУНИТЕТ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Противовирусный иммунитет играет важную роль в клинических исследованиях ОВ и является ключевым коррелятивным биомаркером. Наличие нейтрализующих антител представляет собой одно из основных препятствий на пути к успешной терапии. ОВ, выбранные для лечения, должны быть способны инфицировать клетки человека, что имеет как свои преимущества, так и недостатки. Одной из главных причин ограничения эффективности онколитической виро-терапии у людей является наличие у них иммунитета против вируса. Многие пациенты ранее могли подвергаться воздействию некоторых природных вирусов, используемых в лечении ОВ, или быть вакцинированы против них, что впоследствии приводит к формированию нейтрализующих антител [43]. Например, практически 90% людей имеют антитела против реовируса. Вирус кори также рассматриваемый в качестве потенциального ОВ, имеет сниженную эффективность из-за наличия антител против него в крови пациентов.

Из 154 исследований, которые мы проанализировали, измерение титров противовирусных антител проводилось в 101 (65,6%) случае. Это включало оценку нейтрализующих антител в 43 (27,9%) исследованиях, а в остальных исследованиях измерялись титры ненейтрализующих антител. Изучение вирус-специфических Т-клеточных ответов было менее

распространено и упоминалось только в 23 (14,9%) клинических исследованиях.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Противоопухолевая активность в клинических исследованиях ОВ остается важным аспектом, несмотря на то, что многие из этих исследований были проведены на ранних стадиях разработки и не предполагали выявления терапевтических ответов, что усложняло анализ клинических конечных точек. Тем не менее в большинстве из них были зафиксированы клинические ответы. Важно отметить, что в 93 исследованиях (60,4%) применялись различные критерии оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), среди которых были стандартные RECIST в 74 исследованиях (48,1%), модифицированные RECIST в 12 исследованиях (7,8%) и критерии irRECIST в семи исследованиях (4,5%). Еще четыре исследования (2,6%) использовали модифицированные критерии Всемирной организации здравоохранения, включая исследование III фазы OPTiM T-VEC, в то время как в остальных 57 исследованиях (37%) не было упоминаний о конкретных критериях оценки ответа.

Из 4 850 пациентов, участвовавших в этих исследованиях, общая частота объективного ответа составила 9,4% ($n = 458$), при этом полный ответ наблюдался у 3,5% ($n = 171$) пациентов, а частичный ответ – у 5,9% ($n = 287$). Кроме того, стабилизация заболевания отмечалась у 14,1% ($n = 683$) пациентов, что обеспечило контроль над заболеванием у 23,5% ($n = 1 141$) пациентов. Следует отметить, что незначительный ответ был зафиксирован у 0,3% ($n = 17$) пациентов. Важно подчеркнуть, что, хотя эти цифры довольно скромные, большинство исследований были клиническими испытаниями I фазы и не были специально ориентированы на оценку клинических ответов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Был проведен обзор клинического опыта применения ОВ за последние два десятилетия. Наш анализ, хотя и не исчерпывающий, предоставляет обзор различных типов ОВ, используемых в клинической практике, целевых опухолей, комбинаций, а также статуса проводимых исследований. Из наших данных следует, что в большинстве клинических исследований применяются крупные ДНК-вирусы с различными модификациями. В качестве трансгенов в основном используется *GM-CSF*. Большинство вирусов вводится методом внутриопухолевой инъекции, хотя наблюдается увеличение числа исследований, использующих внутривенное введение. Монотера-

пия ОВ преобладает в большинстве исследований, а комбинированные подходы чаще всего включают химиотерапию.

Несмотря на большое количество проведенных клинических исследований, в настоящее время только четыре ОВ получили разрешение для использования в качестве средства лечения злокачественных опухолей. Первым зарегистрированным ОВ был немодифицированный пикорнавирус ЕСНО-7 (Rigvir), одобренный в Латвии в 2004 г. для лечения меланомы [44]. В 2005 г. в Китае был зарегистрирован модифицированный аденовирус H101 (Oncorine) для лечения рака головы и шеи или пищевода [45]. В 2015 г. T-VEC (Imlygic) стал первым ОВ, получившим разрешение в США для лечения неоперабельной меланомы на поздних стадиях [46]. Впоследствии T-VEC был зарегистрирован в Европе, Австралии, Швейцарии и Израиле. Последним одобренным ОВ был модифицированный ВПГ-1, экспрессирующий ген *lacZ E. coli*, G47Δ (Delytact), который получил условное и ограниченное по времени разрешение в июне 2021 г. в Японии для лечения злокачественных глиом [47].

Таким образом, несмотря на десятилетия исследований и многочисленные клинические испытания, только один препарат на основе ОВ прошел регистрацию FDA. Причиной этого могут быть существующие проблемы безопасности для пациента и окружающей среды. К таким проблемам относятся нецелевые эффекты и мутации или передача вируса [48]. Вирусы имеют высокую вероятность эволюции каждый раз, когда исходный вирус реплицируется, что приводит к пролиферации новых вирусных линий из-за дефектов вирусной полимеразы [49].

Открытым остается вопрос оптимального способа введения ОВ. Основными проблемами в разработке системной доставки являются сывороточная нейтрализация вируса и гепатотоксичность. После лечения люди могут выделять живые реплицирующиеся вирусы, что повышает вероятность передачи вируса здоровым людям. Учитывая высокую скорость мутаций вирусов, особенно РНК-содержащих, существует возможность передачи инфекции при попадании в окружающую среду через отходы [50].

Исходя из этого, существует необходимость проведения дополнительных доклинических исследований для более глубокого понимания основных биологических механизмов, лежащих в основе противоопухолевой активности ОВ. В рамках клинических исследований необходимо стандартизировать методики оценки распределения вируса и внедрить соответствующие биомаркеры, которые предоставят информацию как о противовирусном, так и о про-

тивоопухолевом иммунитете. Кроме того, стимулирование публикации данных исследований в этой области способствует ускорению клинических разработок и максимизации потенциала ОВ для лечения пациентов больных раком.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Debela D.T., Muzazu S.G., Heraro K.D., Ndalama M.T., Mesele B.W., Haile D.C. et al. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Med.* 2021;9:1–10. DOI: 10.1177/20503121211034366.
2. Кит О.И., Харгазов Д.А., Лазутин Ю.Н., Мирзоян Э.А., Милакин А.Г., Статешный О.Н. и др. Иммуноterapia эпителиальных опухолей вилочковой железы. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2023;4(3):56–67. DOI: 10.37748/2686-9039-2023-4-3-7.
3. Santos Apolonio J., Lima de Souza Gonçalves V., Cordeiro Santos M.L., Silva Luz M., Silva Souza J.V., Rocha Pinheiro S.L. et al. Oncolytic virus therapy in cancer: A current review. *World J. Virol.* 2021;10(5):229–255. DOI: 10.5501/wjv.v10.i5.229.
4. Hemminki O., Dos Santos J.M., Hemminki A. Oncolytic viruses for cancer immunotherapy. *J. Hematol. Oncol.* 2020;13(1):84. DOI: 10.1186/s13045-020-00922-1.
5. Heidbuechel J.P.W., Engeland C.E. Oncolytic viruses encoding bispecific T cell engagers: a blueprint for emerging immunovirotherapies. *J. Hematol. Oncol.* 2021;14(1):63. DOI: 10.1186/s13045-021-01075-5.
6. Cristi F., Gutiérrez T., Hitt M.M., Shmulevitz M. Genetic modifications that expand oncolytic virus potency. *Front. Mol. Biosci.* 2022;9:831091. DOI: 10.3389/fmolb.2022.831091.
7. Silva Lima B., Videira M.A. Toxicology and biodistribution: the clinical value of animal biodistribution studies. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2018;8:183–197. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.01.003.
8. Yamaguchi T., Uchida E. Oncolytic virus: regulatory aspects from quality control to clinical studies. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2018;18(2):202–208. DOI: 10.2174/1568009617666170222142650.
9. Russell S.J., Peng K.W. Oncolytic virotherapy: a contest between apples and oranges. *Mol. Ther.* 2017;25(5):1107–1116. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.03.026.
10. Li K., Zhao Y., Hu X., Jiao J., Wang W., Yao H. Advances in the clinical development of oncolytic viruses. *Am. J. Transl. Res.* 2022;14(6):4192–4206.
11. Кит О.И., Игнатов С.Н., Златник Е.Ю., Солдаткина Н.В., Росторгуев Э.Е., Сагалянц А.Б., Бондаренко Е.С. и др. Онколитическая виротерапия в лечении глиобластомы: достижения и проблемы клинических исследований (обзор литературы). *Сибирский онкологический журнал.* 2020;19(6):133–140. DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-133-140.
12. Abou-Alfa G.K., Galle P.R., Chao Y., Erinjeri J., Heo J., Borad M.J. et al. PHOCUS: A Phase 3, Randomized, Open-Label Study of Sequential Treatment with Pexa-Vec (JX-594) and Sorafenib in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Liver Cancer.* 2023;1–17. DOI: 10.1159/000533650.

13. Rahman M.M., McFadden G. Oncolytic viruses: new-est frontier for cancer immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2021;13(21):5452. DOI: 10.3390/cancers13215452.
14. Aiuti A., Cossu G., de Felipe P., Galli M.C., Narayanan G., Renner M. et al. The committee for advanced therapies' of the European Medicines Agency reflection paper on management of clinical risks deriving from insertional mutagenesis. *Hum. Gene Ther. Clin. Dev.* 2013;24(2):47–54. DOI: 10.1089/humc.2013.119.
15. Kaufman H.L., Kohlhapp F.J., Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015;14(9):642–662. DOI: 10.1038/nrd4663.
16. Appaiahgari M.B., Vrati S. Adenoviruses as gene/vaccine delivery vectors: promises and pitfalls. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2015;15(3):337–351. DOI: 10.1517/14712598.2015.993374.
17. Sena-Esteves M., Gao G. Introducing genes into mammalian cells: viral vectors. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2020;2020(8):095513. DOI: 10.1101/pdb.top095513.
18. Kumar A., Taghi Khani A., Sanchez Ortiz A., Swaminathan S. GM-CSF: a double-edged sword in cancer immunotherapy. *Front. Immunol.* 2022;13:901277. DOI: 10.3389/fimmu.2022.901277.
19. Zhao Y., Liu Z., Li L., Wu J., Zhang H., Zhang H. et al. Oncolytic adenovirus: prospects for cancer immunotherapy. *Front. Microbiol.* 2021;12:707290. DOI: 10.3389/fmicb.2021.707290.
20. Woo S.R., Fuertes M.B., Corrales L., Spranger S., Furdyna M.J., Leung M.Y. et al. STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors. *Immunity*. 2014;41(5):830–842. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.10.017.
21. Iurescia S., Fioretti D., Rinaldi M. Targeting cytosolic nucleic acid-sensing pathways for cancer immunotherapies. *Front. Immunol.* 2018;9:711. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00711.
22. Andtbacka R.H.I., Collichio F., Harrington K.J., Middleton M.R., Downey G., Öhrling K. et al. Final analyses of OP-TiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III–IV melanoma. *J. Immunother. Cancer*. 2019;7(1):145. DOI: 10.1186/s40425-019-0623-z.
23. Zhang B., Cheng P. Improving antitumor efficacy via combinatorial regimens of oncolytic virotherapy. *Mol. Cancer*. 2020;19(1):158. DOI: 10.1186/s12943-020-01275-6.
24. Soliman H., Hogue D., Han H., Mooney B., Costa R., Lee M.C. et al. Oncolytic T-VEC virotherapy plus neoadjuvant chemotherapy in nonmetastatic triple-negative breast cancer: a phase 2 trial. *Nat. Med.* 2023;29(2):450–457. DOI: 10.1038/s41591-023-02210-0.
25. Ren Y., Miao J.M., Wang Y.Y., Fan Z., Kong X.B., Yang L. et al. Oncolytic viruses combined with immune checkpoint therapy for colorectal cancer is a promising treatment option. *Front. Immunol.* 2022;13:961796. DOI: 10.3389/fimmu.2022.961796.
26. Monge C., Xie C., Myojin Y., Coffman K., Hrones D.M., Wang S. et al. Phase I/II study of PexaVec in combination with immune checkpoint inhibition in refractory metastatic colorectal cancer. *J. Immunother. Cancer*. 2023;11(2):e005640. DOI: 10.1136/jitc-2022-005640.
27. Liu X., Zhang J., Feng K., Wang S., Chen L., Niu S. et al. Efficacy and safety of oncolytic virus combined with chemotherapy or immune checkpoint inhibitors in solid tumor patients: A meta-analysis. *Front. Pharmacol.* 2022;13:1023533. DOI: 10.3389/fphar.2022.1023533.
28. Zhang B., Cheng P. Improving antitumor efficacy via combinatorial regimens of oncolytic virotherapy. *Mol. Cancer*. 2020;19(1):158. DOI: 10.1186/s12943-020-01275-6.
29. Passaro C., Alayo Q., De Laura I., McNulty J., Grauwet K., Ito H. et al. Arming an oncolytic herpes simplex virus type 1 with a single-chain fragment variable antibody against PD-1 for experimental glioblastoma therapy. *Clin. Cancer Res.* 2019;25(1):290–299. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2311.
30. Zhu X., Fan C., Xiong Z., Chen M., Li Z., Tao T. et al. Development and application of oncolytic viruses as the nemesis of tumor cells. *Front. Microbiol.* 2023;14:1188526. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1188526.
31. Ji W., Li L., Zhou S., Qiu L., Qian Z., Zhang H. et al. Combination immunotherapy of oncolytic virus nanovesicles and PD-1 blockade effectively enhances therapeutic effects and boosts antitumor immune response. *J. Drug Target.* 2020;28(9):982–990. DOI: 10.1080/1061186X.2020.1766473.
32. Chen L., Ma Z., Xu C., Xie Y., Ouyang D., Song S., Zhao X. et al. Progress in oncolytic viruses modified with nanomaterials for intravenous application. *Cancer Biol. Med.* 2023;20(11):830–855. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0275.
33. Ban W., Guan J., Huang H., He Z., Sun M., Liu F. et al. Emerging systemic delivery strategies of oncolytic viruses: A key step toward cancer immunotherapy. *Nano Res.* 2022;15(5):4137–4153. DOI: 10.1007/s12274-021-4031-6.
34. Fares J., Ahmed A.U., Ulasov I.V., Sonabend A.M., Miska J., Lee-Chang C., Balyasnikova I.V. et al. Neural stem cell delivery of an oncolytic adenovirus in newly diagnosed malignant glioma: a first-in-human, phase 1, dose-escalation trial. *Lancet Oncol.* 2021;22(8):1103–1114. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00245-X.
35. Fujita K., Kato T., Hatano K., Kawashima A., Ujike T., Uemura M. et al. Intratumoral and s.c. injection of inactivated hemagglutinating virus of Japan envelope (GEN0101) in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Cancer Sci.* 2020;111(5):1692–1698. DOI: 10.1111/cas.14366.
36. Silk A.W., O'Day S.J., Kaufman H.L., Bryan J., Norrell J.T., Imbergamo C. et al. A phase 1b single-arm trial of intratumoral oncolytic virus V937 in combination with pembrolizumab in patients with advanced melanoma: results from the CAPRA study. *Cancer Immunol. Immunother.* 2023;72(6):1405–1415. DOI: 10.1007/s00262-022-03314-1.
37. Nawrocki S.T., Olea J., Villa Celi C., Dadrastoussi H., Wu K., Tsao-Wei D. et al. Comprehensive Single-Cell Immune Profiling Defines the Patient Multiple Myeloma Microenvironment Following Oncolytic Virus Therapy in a Phase Ib Trial. *Clin. Cancer Res.* 2023;29(24):5087–5103. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-23-0229.
38. Hill C., Carlisle R. Achieving systemic delivery of oncolytic viruses. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2019;16(6):607–620. DOI: 10.1080/17425247.2019.1617269.
39. Naumenko V., Van S., Dastidar H., Kim D.S., Kim S.J., Zeng Z. Visualizing oncolytic virus-host interactions in live

- mice using intravital microscopy. *Mol. Ther. Oncolytics*. 2018;10:14–27. DOI: 10.1016/j.omto.2018.06.001.
40. Bulcha J.T., Wang Y., Ma H., Tai P.W.L., Gao G. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduct. Target Ther.* 2021;6(1):53. DOI: 10.1038/s41392-021-00487-6.
 41. Bubela T., Boch R., Viswanathan S. Recommendations for regulating the environmental risk of shedding for gene therapy and oncolytic viruses in Canada. *Front. Med. (Lausanne)*. 2019;6:58. DOI: 10.3389/fmed.2019.00058.
 42. Onnockx S., Baldo A., Pauwels K. Oncolytic viruses: an inventory of shedding data from clinical trials and elements for the environmental risk assessment. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(9):1448. DOI: 10.3390/vaccines11091448.
 43. Berkeley R.A., Steele L.P., Mulder A.A., van den Wollenberg D.J.M., Kottke T.J., Thompson J. et al. Antibody-neutralized reovirus is effective in oncolytic virotherapy. *Cancer Immunol. Res.* 2018;6(10):1161–1173. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0309.
 44. Alberts P., Tilgase A., Rasa A., Bandere K., Venskus D. The advent of oncolytic virotherapy in oncology: The Rigvir® story. *Eur. J. Pharmacol.* 2018;837:117–126. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.08.042.
 45. Xia Z.J., Chang J.H., Zhang L., Jiang W.Q., Guan Z.Z., Liu J.W. et al. Phase III randomized clinical trial of intratumoral injection of E1B gene-deleted adenovirus (H101) combined with cisplatin-based chemotherapy in treating squamous cell cancer of head and neck or esophagus. *Ai Zheng*. 2004;23(12):1666–1670.
 46. Andtbacka R.H., Kaufman H.L., Collichio F., Amatruda T., Senzer N., Chesney J. et al. talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.* 2015;33(25):2780–2788. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.3377.
 47. Frampton J.E. Teserpaturev/G47Δ: first approval. *BioDrugs*. 2022;36(5):667–672. DOI: 10.1007/s40259-022-00553-7.
 48. Forbes N.S., Coffin R.S., Deng L., Evgin L., Fiering S., Giacalone M. et al. White paper on microbial anti-cancer therapy and prevention. *J. Immunother. Cancer*. 2018;6(1):78. DOI: 10.1186/s40425-018-0381-3.
 49. Lawler S.E., Speranza M.C., Cho C.F., Chiocca E.A. Oncolytic viruses in cancer treatment: a review. *JAMA Oncol.* 2017;3(6):841–849. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.2064.
 50. Omole R.K., Oluwatola O., Akere M.T., Eniafe J., Agboluaje E.O., Daramola O.B. et al. Comprehensive assessment on the applications of oncolytic viruses for cancer immunotherapy. *Front. Pharmacol.* 2022;13:1082797. DOI: 10.3389/fphar.2022.1082797.

Вклад авторов

Головинов И.В., Шульга А.А., Власов С.Н. – анализ и интерпретация данных. Гончарова А.С., Димитриади С.Н. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Головинов Игорь Викторович – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, ivgolovinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3011-6904>

Гончарова Анна Сергеевна – канд. биол. наук, зав. испытательным лабораторным центром, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, fateyeva_a_s@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>

Шульга Анна Александровна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, slip.anka96@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>

Власов Сергей Николаевич – студент 4-го курса, лечебно-профилактический факультет, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, ser.vl4s0v02@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3289-8436>

Димитриади Сергей Николаевич – д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение онкоурологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Dimitriadi.pro@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2565-1518>

(✉) Головинов Игорь Викторович, ivgolovinov@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.03.2024;
одобрена после рецензирования 26.03.2024;
принята к публикации 14.05.2024

УДК 577.112:616-006

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-169-176>

Ангиогенин: биологическая роль, механизмы действия и участие в онкогенезе

Михалев Д.Е., Коротенко С.Н., Ломовских А.Ю., Байдик О.Д.

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

РЕЗЮМЕ

Ангиогенин – небольшой полипептид, состоящий из 123 аминокислот, вовлеченный в процессы ангиогенеза и онкогенеза. Данный белок играет важную роль в различных физиологических и патологических процессах посредством регуляции пролиферации, выживания, миграции, инвазии и дифференцировки клеток.

В лекции представлены данные о получении, взаимодействии ангиогенина с различными белками, приведены механизмы действия, показана биологическая роль в ангиогенезе и онкогенезе. Поиск литературы осуществлялся в поисковых системах PubMed, Medline, Elibrary, Scopus, The Cochrane Library, РИНЦ.

Ключевые слова: ангиогенин, ангиогенез, канцерогенез, биологически активные вещества

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: Михалев Д.Е., Коротенко С.Н., Ломовских А.Ю., Байдик О.Д. Ангиогенин: биологическая роль, механизмы действия и участие в онкогенезе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):169–176. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-169-176>.

Angiogenin: biological role, mechanisms of action, and participation in oncogenesis

Mikhalev D.E., Korotenko S.N., Lomovskikh A.Yu., Baydik O.D.

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

ABSTRACT

Angiogenin is a small polypeptide consisting of 123 amino acids involved in the processes of angiogenesis and tumorigenesis. This protein plays an important role in various physiological and pathological processes through the regulation of cell proliferation, survival, migration, invasion, and differentiation.

The lecture presents data on angiogenin production and interaction with various proteins, describes mechanisms of its action, and shows its biological role in angiogenesis and oncogenesis. The literature search was carried out in the PubMed, Medline, Elibrary, Scopus, The Cochrane Library, and RSCI search engines.

✉ Михалев Дмитрий Евгеньевич, dm199412@gmail.com

Keywords: angiogenin, angiogenesis, carcinogenesis, biologically active substances

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

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

For citation: Mikhalev D.E., Korotenko S.N., Lomovskikh A.Yu., Baydik O.D. Angiogenin: biological role, mechanisms of action, and participation in oncogenesis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):169–176. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-169-176>.

ВВЕДЕНИЕ

Биологически активные вещества крайне необходимы для нашего организма. Еще с начала прошлого столетия ученые пытались экспериментально определить, какие вещества отвечают за пролиферацию тканей. Открытие факторов роста в конце 1970-х гг. – начале 1980-х гг. прошлого столетия заставило научную общественность взглянуть в новом свете на процессы, проходящие в тканях при их повреждении [1–4]. Отдельным направлением в изучении факторов роста стало их влияние на канцерогенез [5, 6]. Некоторые из факторов были впервые выделены из злокачественных опухолей [7, 8].

В настоящее время известно о десятках биологически активных веществ, принимающих участие в пролиферации и миграции разнообразных типов клеток, включая и ангиогенин (ANG) [9–12].

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Общие сведения. ANG – представитель суперсемейства рибонуклеаз (RNase 5), основной белок, состоящий из 123 аминокислот, молекулярной массой 14,1 кДа. Выявлено 10 типов ANG, встречающегося у разных млекопитающих и рыб, обладающего определенными биологическими активностями. Имеются данные, что ANG (RNase5) и рибонуклеаза 4 (RNase4) представляют наиболее древние формы рибонуклеаз, которые появились у первых позвоночных животных в качестве защитной антимикробной системы. ANG имеет 33%-ю идентичность в последовательности нуклеотидов и 65%-ю гомологичность с панкреатической рибонуклеазой (RNase1). Сходным для всех рибонуклеаз является ферментативная активность в отношении рибонуклеиновой кислоты (RNA) [13].

Белок имеет три домена, которые являются отдельными функциональными сайтами биологической активности [14, 15]: а) сайт связывания клеточного рецептора: состоит из аминокислотных остатков в сегментах петли Lys60, Asn68 и Asn109 и позволяет связываться с мотонейронами и эндотелио-

цитами [14]; б) последовательность ядерной локализации (NLS), состоящая из остатков Ile29–Leu35, которые способствуют ядерной транслокации ANG [14]; в) каталитический сайт, состоящий из остатков His13, Lys40 и His114 с образованием каталитического центра (P1), где происходит разрыв фосфодиэфирной связи [16]. ANG также имеет центр связывания пиримидиновых оснований (B1) и центр связывания пуриновых оснований (B2). Блокирование центра B1 частично объясняет, почему ANG снижает рибонуклеолитическую активность. Эти структуры обуславливают уникальную рибонуклеолитическую активность и разнообразные биологические функции этого белка [15].

Получение ангиогенина. С конца 1980-х гг. прошлого столетия ученые стали использовать различные виды грибов в качестве продуцентов гетерогенных белков [17]. В последнее время большую популярность приобретает метилотрофный дрожжевой гриб рода *Pichia pastoris* как продуцент рекомбинантных протеинов. Он имеет ряд преимуществ над *E. coli*. Например, отсутствие проблем с правильной сборкой белка, высокий уровень выделения рекомбинантных белков во внеклеточную среду, что упрощает процесс очистки белка и возможность осуществлять посттрансляционные модификации производимых белков [18].

В настоящее время получен патент Российской Федерации на синтезирование рекомбинантного химерного белка ANG человека с использованием культуры дрожжей *P. Pastoris* [19].

Участие ангиогенина в физиологических процессах. У здоровых людей концентрация ANG в плазме крови составляет от 274 до 496 нг/мл. Изменения в концентрации ANG зависят от множества факторов. Среди них пол, возраст, масса тела. Концентрация ANG в организме может изменяться на фоне различных физиологических состояний, например, при смене фаз менструального цикла и беременности. Изменение концентрации ANG может быть вызвано и патологическими процессами различного характера. Этот факт имеет большой научный интерес и

открывает новые горизонты в ранней диагностике различных заболеваний [20].

На клеточном уровне ANG регулирует пролиферацию, миграцию, инвазию, адгезию и дифференцировку клеток в различных экспериментальных клеточных моделях [21, 22].

Установлено, что рецептор ANG отсутствует на мембране сливающихся эндотелиальных клетках кровеносных сосудов и не индуцирует биогенез рибосом [23, 24]. Однако высокая концентрация ANG в кровеносных сосудах стимулирует рост кровеносных сосудов и восстановление тканей при нарушении слиянии эндотелиальных клеток, тем самым способствуя заживлению ран при потере целостности сосудов [25]. Кроме того, гемодинамические силы связаны с активностью клеточного цикла эндотелиальных клеток, а в свою очередь, эндотелиальные клетки очень медленно обновляются во взрослых тканях [26]. Следовательно, плазменный ANG может контролировать сосудистый гомеостаз посредством поддержания самообновления эндотелиальных клеток. Кроме стимулирования ангиогенеза через активацию сосудистых эндотелиальных и гладкомышечных клеток ANG является триггерным компонентом в процессах формирования тубулярных структур, пролиферации, инвазии миграции клеток [27].

По данным L.M. Cusci и соавт. (2021), важным элементом в механизме действия ANG является медь [28]. Ионы меди усиливают и способствуют проницаемости сосудов, а также миграции и пролиферации эндотелиальных клеток путем связывания с несколькими факторами, участвующими в ангиогенном процессе. Медь усиливает связь ANG с эндотелиальными клетками и влияет на внутриклеточную локализацию белка. L.M. Cusci и соавт. (2021) также утверждают, что медь способна модулировать транскрипцию ANG [28]. Медь увеличивает экспрессию ANG в клеточной линии HUVEC, поэтому возможно, что увеличение внеклеточной меди во время процесса ангиогенеза может регулировать уровень ангиогенина [29].

Механизмы действия, биологическая роль ангиогенина в ангиогенезе. Известно несколько механизмов действия ANG в ангиогенезе:

1. Проявляет рибонуклеазу активность.
2. Связывается с рецепторами клетки.
3. Индуцирует деградацию базальной мембраны.
4. Связывается с белком массой 170 кДа (ANG-связывающий белок) и впоследствии передает сигнал в цитоплазму клетки.
5. Перемещается в ядро клетки-мишени, повышая транскрипцию rRNA [27].

Ангиогенин-взаимодействующие белки. Первым идентифицированным ANG-связывающим белком является ингибитор плацентарной рибонуклеазы человека (RNH1), богатый лейцином массой 50 кДа [29]. Белки RNH1 и ANG имеют достаточно обширные интерфейсы связывания друг с другом, тем не менее, важные контакты содержатся на каталитическом остатке Lys-40 ANG и С-концевом сегменте 434–460 RNH1 [30]. Ангиогенная и ферментативная активности ANG ингибируются связыванием с RNH1 [30]. Случайному расщеплению клеточной РНК препятствует связывание клеточного ANG с RNH1. Установлено, что RNH1 контролирует субклеточную локализацию ANG для контроля роста и выживания [30]; пролиферация клеток, включая фолликулин [31], гистон H3 [33], четыре с половиной домена LIM 3 (FHL3) [32] и рецептор ANG, экспрессируемый в эндотелиальных клетках человека [34] или синдекан 4 в клетках астроцитов [35]; и апоптоз клеток, включая p53 [36], MDM2 [37], фактор теплового шока 1 (HSF1) [37] и RNH1 [30]. Полная идентификация белков, взаимодействующих с ANG, может помочь составить карты взаимодействия ANG и лучше понять его роль и механизмы.

Секретируемый при стрессе ANG накапливается в цитоплазме и в ядрышках в условиях роста через рецептор-опосредованный механизм эндоцитоза, активируя пути передачи сигнала PI3K/AKT, SAPK/JNK, ERK1/2 в различных клетках. Взаимодействие между ANG и комплексом клеточной поверхности может привести к деградации ECM и активации матриксных металлопротеиназ, поддерживающих инвазию и миграцию клеток. Цитоплазматический ANG в условиях стресса расщепляет тРНК с образованием тпРНК, последний ингибирует инициацию трансляции путем рекрутирования eIF4G/A из непокрытых мРНК через взаимодействие с сайленсером трансляции YB-1. ANG способствует убиквитинированию p53 путем ингибирования фосфорилирования p53 серина-15 и последующем связывании Mdm2. Помимо этого, ядерный ANG способствует транскрипции мРНК и рРНК в условиях роста.

Клеточный ангиогенин регулирует метаболизм нуклеиновых кислот

Установлено, что секретируемый ANG через механизмы эндоцитоза накапливается в ядрышках и содействует метаболизму нуклеиновых кислот, способствует транскрипции 47S пре-рРНК путем связывания областей ABE (ANG-B-индикаторный элемент) и UCE (восходящий С-элемент) на промоторе рибосомальной ДНК (рДНК), секретируемый ANG увеличивает количество активно транскрибирующих

рДНК и участвует сборке иницирующего комплекса путем эпигенетической активации посредством метилирования промотора и модификации гистонов [38].

Установлено, что избыток ANG в ядре может быть связан с транскрипцией мРНК. ANG ингибирует экспрессию $ERR\gamma$, связываясь с первой экзонной областью гамма-рецептора эстрогена ($ERR\gamma$) [39]. Для скрининга и идентификации мРНК, регулируемых ANG на уровне всего генома, был проведен чип-анализ иммунопреципитации хроматина для идентификации в общей сложности 699 генов. По данным анализа, эти гены значительно обогащают пути онкогенеза. Беря во внимания тот факт, что ANG связывается с гистоновым белком и ремоделирует модификацию гистонов, вероятно, ANG выступает в качестве активатора ремоделирования хроматина, путем регуляции транскрипции мРНК.

ANG выполняет ключевую роль в метаболизме тРНК, происходящей в цитоплазме. Интересно, что тРНК впервые была использована для количественного ферментативного анализа ANG [39]. Недавние исследования продемонстрировали, что ANG деградирует одноцепочечные 3'-ССА-концы тРНК или антикодоновую петлю тРНК с образованием тиРНК (полученных из т-РНК, вызванных стрессом малых РНК) в ответ на стресс (например, окислительный, гипоксический или голодный стресс) [40–42]. Модификация выбранной антикодонной петли тРНК (Val AAC, Gly GCC и Asp GTC) защищает тРНК от ANG-индуцированного расщепления тРНК [42]. RNH1 может также регулировать вызванную стрессом субклеточную локализацию ANG, чтобы контролировать выработку тиРНК в условиях стресса [42].

Ангиогенин стимулирует деградацию базальной мембраны

В микроокружении опухоли внеклеточный ANG может достигать клеточной поверхности эндотелиальных клеток, где он связывается с актином и диссоциирует в виде комплекса, называемого AngBP [24, 43]. Этот комплекс запускает синтезирование плазмينا из плазминогена [44]. Некоторые изменения в клеточном цитоскелете: 1) изменения физических свойств F-актина и ингибирование полимеризации G-актина; 2) активация плазминоген (сериновой) протеазной системы плазмينا и системы матриксных металлопротеиназ обусловлена взаимодействием ANG и актином клеточной поверхности [43, 44].

ANG выступает мостиковой молекулой, облегчающей взаимодействия с белками uPAR, A2 и комплексом S100-A10, необходимым для образования плазмина и миграции клеток, на стыке областей липидных и нелипидных рафтов клеточных мембран

[45, 46]. Был идентифицирован пептид (ANI-E), ингибирующий взаимодействие между ANG и актином, а также ANG-индуцированный ангиогенез [43]. Путем активации фибринолитической системы в клетках ANG в концентрации ≥ 100 нг/см² усиливает миграцию и инвазию эндотелиальных клеток. ANG также поддерживает адгезию различных клеток-мишеней [44]. Таким образом, ANG способствует деградации базальной мембраны и внеклеточного матрикса. Наряду с этим цитоплазматический ANG оптимизирует сборку стрессовых волокон и образование фокальных адгезий для обеспечения миграции клеток путем взаимодействия с β -актином, α -актинином 4 и тяжелой цепью немускульного миозина 9 [43].

Ангиогенин может поддерживать гомеостаз кровеносных сосудов

Как было указано выше, ANG играет ключевую роль в нормальном ангиогенезе и при опухолевом росте, взаимодействуя с эндотелиальными и гладкомышечными клетками и опосредуя миграцию, инвазию, пролиферацию последних, а также образование в них трубчатых структур. Помимо этого, ANG, связываясь с актином гладкомышечных и эндотелиальных клеток, способствует запуску протеолитических каскадов, вырабатывающих протеазы и плазмин, которые способствуют разрушению слоев фибронектина и ламинина базальной мембраны клетки и внеклеточного матрикса, что способствует миграции эндотелиальных клеток в периваскулярную ткань.

Помимо этого, продуцируется внеклеточная сигнальная киназа 1/2 (ERK1/2) и протеинкиназа B/Akt, приводящие к пролиферации клеток и инвазии базальной мембраны, что связано с дальнейшим ангиогенезом. Транслокация ANG в ядро клетки является принципиально важным этапом ангиогенеза, усиливающим транскрипцию рРНК путем связывания с СТ-богатом ANGсвязывающим элементом (ABE), что впоследствии активирует другие ангиогенные факторы, индуцирующие ангиогенез.

Ангиогенин и онкогенез

Туморогенез – многоэтапный процесс, характеризующийся генетическими и эпигенетическими изменениями в опухолевых клетках, а также созданием поддерживающих условий микроокружения опухоли. Доказано, что ANG оказывает влияние практически на все стадии онкогенеза, включая стимуляцию пролиферации опухолевых клеток, защиту опухолевых клеток от неблагоприятных условий выживания, усиление миграции и инвазии опухолевых клеток и индуцирование ангиогенеза.

Клетки солидных новообразований, находящиеся в неблагоприятных условиях, способны к пе-

репрограммированию экспрессии генов для адаптации к субоптимальным условиям, выживанию и дальнейшему росту. ANG как один из белков, реагирующих на стресс, значительно увеличивается в клеточных линиях лимфомы, рака шейки матки, злокачественной меланомы человека в гипоксической среде [47–49]. Установлено, что индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1), который контролирует экспрессию генов, необходим и достаточен для активации экспрессии ANG в клетках, подвергшихся гипоксии [50].

ANG секретируется клетками опухоли, способствуя формированию микроокружения, пролиферации и развитию опухоли. Этот белок может постоянно перемещаться в ядра опухолевых клеток независимо от их плотности и способствовать пролиферации [22]. Являясь одним из основных ангиогенных компонентов микровезикул (MB), ANG высвобождается глиобластомой и стимулирует образование канальцев эндотелиальными клетками [51]. Клетки гепатоцеллюлярной карциномы также секретируют ANG, индуцируя звездчатые клетки печени и ремоделирование состава внеклеточного матрикса [52]. Следовательно, ANG способствует миграции в опухоль эндотелиальных клеток, деградируя внеклеточный матрикс и базальную мембрану. Высвобождению ANG также способствуют тучные клетки, накапливающиеся в окружающей опухоль строме [20]. Другой источник ANG – микровезикулы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток в условиях гипоксии. Основная их функция – образование новых кровеносных сосудов [20]. Установлено, что ANG индуцирует васкулогенную мимикрию клеток фибросаркомы HT1080, способствуя ангиогенезу опухоли и метастазированию через кровеносные сосуды [24].

Измерение уровня ANG в сыворотке крови целесообразно для оценки риска и прогнозирования течения различных онкологических заболеваний. Уровни ANG в сыворотке крови различаются в зависимости от стадии, типа рака и проведения соответствующего лечения. Так, при солидных опухолях регистрировались повышенные уровни ANG в сыворотке крови, что указывает на неблагоприятный прогноз [20]. Установлено, в процессе эволюционирования эпителиальных клеток предстательной железы от доброкачественного к инвазивному фенотипу в них значительно повышается ANG [53]. Обсуждаются предложения использования ANG в качестве клинического маркера для детекции рецидива опухоли и для оценки проводимой терапии.

Эпителиально-мезенхимальный переход представляет собой процесс, при котором эпителиальные

клетки теряют свою апикально-базальную полярность, меняют свой фенотип на мезенхимальное состояние и демонстрируют снижение межклеточной адгезии. Это приводит к усилению межклеточной адгезии с внеклеточным матриксом, приобретая при этом инвазивные и мезенхимоподобные свойства. В тканях плоскоклеточного рака легкого высокая экспрессия ANG положительно коррелировала с экспрессией мезенхимальных маркеров и отрицательно – с эпителиальными маркерами. Виментин и TGF- β 1 играют важную роль в эпителиально-мезенхимальном переходе и являются ключевыми регуляторами миграции мезенхимальных клеток. Сверхэкспрессия ANG приводит к повышению регуляции виментина, TGF- β 1 и N-кадгерина и снижению уровня E-кадгерина и β -катенина, указывая на то, что ANG способствует инвазии и метастазированию рака легких, индуцируя эпителиально-мезенхимальный переход [54].

ANG может также способствовать пролиферации, инвазии, миграции и эпителиально-мезенхимальному переходу опухолевых клеток путем расщепления зрелых тРНК с образованием тирНК, которые способствуют пролиферации и апоптозу клеток, экспрессии генов и посттранскрипционной модификации, киназной активности и трансляции [55].

ANG связывается с рецепторами, ассоциированными с эндотелиальными клетками сосудов, способствуя опухолевому ангиогенезу, а специфическое связывание ANG с рецептором тирозинкиназного типа (RTK) Tie-2 на поверхности эндотелиальных клеток приводит к фосфорилированию и диссоциации периваскулярных клеток Сертоли. Это способствует формированию сосудистых структурных каналов миграции, а также активации и миграции сосудистых эндотелиальных клеток, ремоделированию сосудов и образованию неоваскулярных отростков, которые, в свою очередь, увеличивают перфузионный поток крови [56]. ANG индуцирует ангиогенез в ткани рака молочной железы через активацию протеинкиназы B/Akt путем связывания с ее рецептором (белок 3, содержащий только четыре с половиной LIM, FHL3) на эндотелиальных клетках или проникая в клетки посредством эндоцитоза и подвергаясь ядерной транслокации. Ядерная транслокация ANG важна для ангиогенеза, инициируемого другими ангиогенными факторами (например, фактором роста эндотелия сосудов (VEGF)). Действительно, если ANG блокируется, эти факторы могут потерять свою ангиогенную функцию [57].

ANG способен регулировать чувствительность злокачественных опухолей к лучевой и химиотерапии. Радиация может разрушить кровеносные сосуды, которые снабжают опухоль питательными веще-

ствами и кислородом, играя жизненно важную роль в ликвидации рака [57]. Исследования показывают, что сочетание лучевой терапии и антиангиогенных препаратов имеет синергический эффект, а ингибиторы ANG вместе с лучевой терапией обещают снизить частоту рецидивов после лучевой терапии опухолей и повысить выживаемость [58–60]. Однако конкретные молекулярные механизмы этого эффекта требуют дальнейшего выяснения. Исследования также показали, что ANG обладает функцией устойчивости к лучевой терапии (RT). Используя набор антител к человеческим цитокинам RayBio, одновременно исследовали 297 уровней белка и анализировали кондиционированную среду из HONE1 и HONE1-IR-резистентных клеток карциномы носоглотки. Экспрессия ANG была значительно выше в клетках HONE1-IR, обработанных облучением в дозе 4 Гр, что индуцировало устойчивость клеток рака носоглотки к радиации и снижало безрецидивную и общую выживаемость у пациентов с раком носоглотки [61].

ANG является лигандом рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и может действовать как биомаркер для прогнозирования чувствительности к ингибитору тирозинкиназы EGFR эрлотинибу у пациентов с раком поджелудочной железы. В этом контексте ANG связан со сниженной чувствительностью к лечению эрлотинибом как *in vitro*, так и *in vivo*. В одной группе пациентов высокие уровни ANG в плазме у пациентов с раком поджелудочной железы были положительно связаны с ответом на лечение эрлотинибом. Q93 ANG необходим для эффективного связывания и активации EGFR. Активация оси ANG-EGFR делает опухоли более чувствительными к лечению эрлотинибом, а нокдаун ANG снижает чувствительность к лечению эрлотинибом и поддерживает образование колоний и жизнеспособность клеток [62].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ANG представляет собой многофункциональный белок с разнообразными механизмами действия. С одной стороны, ANG активно участвует в иницировании и прогрессировании рака, способствуя неоваскуляризации опухоли, осуществляет регулирование пролиферации, инвазии, миграции и чувствительности к радиохимиотерапии некоторых типов раковых клеток, с другой стороны, является репаративным агентом с выраженным противовоспалительным действием. Однако открытым остается вопрос: при каких условиях ранозаживляющие свойства ANG меняются на канцерогенные? Это дает перспективы для дальнейшего его изучения в фундаментальной онкологии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wee P., Wang Z. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. *Cancers (Basel)*. 2017;9(5):52–65. DOI: 10.3390/cancers9050052.
2. Schenck K., Schreurs O., Hayashi K., Helgeland K. The role of nerve growth factor (NGF) and its precursor forms in oral wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(2):386–398. DOI: 10.3390/ijms18020386.
3. Hume R.D., Deshmukh T., Doan T., Shim W.J., Kanagalingam S., Tallapragada V. et al. PDGF-AB reduces myofibroblast differentiation without increasing proliferation after myocardial infarction. *JACC. Basic to Translational Science*. 2023;8(6):658–674. DOI: 10.1016/j.jacbs.2022.11.006
4. Yamakawa S., Hayashida K. Advances in surgical applications of growth factors for wound healing. *Burns & Trauma*. 2019;7:10–17. DOI: 10.1186/s41038-019-0148-1.
5. Mihaylova Z., Tsikandelova R., Sanimirov P., Gateva N., Mitev V., Ishkitiev N. Role of PDGF-BB in proliferation, differentiation and maintaining stem cell properties of PDL cells *in vitro*. *Archives of Oral Biology*. 2018;85:1–9. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.09.019.
6. Heldin C.H., Lennartsson J., Westermark B. Involvement of platelet-derived growth factor ligands and receptors in tumorigenesis. *Journal of Internal Medicine*. 2018;283(1):16–44. DOI: 10.1111/joim.12690.
7. Lyons S.M., Fay M.M., Akiyama Y., Anderson P.J., Ivanov P. RNA biology of angiogenin: current state and perspectives. *RNA Biology*. 2017;14(2):171–178. DOI: 10.1080/15476286.2016.1272746.
8. Lugano R., Ramachandra M., Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020;77:1745–1770. DOI: 1007/s00018-019-03351-7.
10. Isali I., Al-Sadawi M.A.A., Qureshi A., Khalifa A.O., Agrawal M.K., Shukla S. Growth factors involve in cellular proliferation, differentiation and migration during prostate cancer metastasis. *International Journal of Cell Biology*. 2019;2(1-2):1–13.
11. Fernández-Guarino M., Hernández-Bule M.L., Bacci S. Cellular and molecular processes in wound healing. *Biomedicines*. 2023;11(9):2526–2532. DOI: 10.3390/biomedicines11092526.
12. Yurina N.V., Ageeva T.A., Goryachkin A.M., Varaksin N. Effects of recombinant angiogenin on collagen fiber formation and angiogenesis in the dermis of Wistar rats. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2021;14:187–196. DOI: 10.2147/CCID.S294825.
13. Sultana M.F., Abo H., Kawashima H. Human and mouse angiogenins: emerging insights and potential opportunities. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:1022945. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1022945.
14. Marzo T., Ferraro G., Cucci L.M., Pratesi A., Hansson Ö., Satriano C. et al. Oxaliplatin inhibits angiogenin proliferative and cell migration effects in prostate cancer cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2021;226:111657. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111657.
15. Naletova I., Cucci L., D'Angeli F., Anfuso C., Magri A., Mendola D. et al. A tunable nanoplatform of nanogold function-

- alised with angiogenin peptides for anti-angiogenic therapy of brain tumours. *Cancers (Basel)*. 2019;11(9):1322–1350. DOI: 10.3390/cancers11091322.
16. Hoang T.T., Raines R.T. Molecular basis for the autonomous promotion of cell proliferation by angiogenin. *Nucleic Acids Research*. 2017;45(2):818–831. DOI: 10.1093/nar/gkw1192.
 17. Kastberg L.L., Barbera A.R., Jensen M.K., Workman C.T. Burden imposed by heterologous protein production in two major industrial yeast cell factories: identifying sources and mitigation strategies. *Frontiers in Fungal Biology*. 2022;3:827704. DOI: 10.3389/ffunb.2022.827704.
 18. Mastropietro G., Aw R., Polizzi K.M. Expression of proteins in *Pichia pastoris*. *Methods in Enzymology*. 2021;660:53–80. DOI: 10.1016/bs.mie.2021.07.004.
 19. Пуртов А.А., Мамаев А.Л. Рекомбинантная плазмида для экспрессии в дрожжах *Pichia pastoris* гена химерного белка ангиогенина человека и штамм дрожжей *Pichia pastoris* – продуцент рекомбинантного химерного белка ангиогенина человека. Российская Федерация RU 2658758. 2017.10.02 ООО «Лаборатория ангиофарм».
 20. Yu D., Cai Y., Zhou W., Sheng J., Xu Z. The Potential of Angiogenin as a Serum Biomarker for Diseases: Systematic Review and Meta-Analysis. *Disease Markers*. 2018;15(2018):1984718. DOI: 10.1155/2018/1984718.
 21. Garnett E.R., Raines R.T. Emerging biological functions of ribonuclease 1 and angiogenin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2022;57(3):244–260. DOI: 10.1080/10409238.2021.2004577.
 22. Mao M., Chen W., Ye D. Research progress on the structure, function, and use of angiogenin in malignant tumours. *Heliyon*. 2024;10(9):e30654. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e30654.
 23. Stillinovic M., Sarangdhar M.A., Andina N., Tardivel A., Greub F., Bambaci G. et al. Ribonuclease inhibitor and angiogenin system regulates cell type-specific global translation. *Science Advances*. 2024;10(22):eadl0320. DOI: 10.1126/sciadv.adl0320.
 24. Jinghao S., Zhengping X. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2016;48(5):399–410. DOI: 10.1093/abbs/gmv131.
 25. Gupta S., Chittoria R.K., Chavan V., Aggarwal A., Reddy L.C., Mohan P.B. et al. Role of burn blister fluid in wound healing. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 2021;14(3):370–373. DOI: 10.4103/JCAS.JCAS_90_19.
 26. Rajala R. How big is the endothelium? Comment on “Spatial and temporal dynamics of the endothelium”. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2021;19(10):2634–2635. DOI: 10.1111/jth.15469.
 27. Lyons S.M., Fay M.M., Akiyama Y., Anderson P.J., Ivanov P. RNA biology of angiogenin: Current state and perspectives. *RNA Biology*. 2017;14(2):171–178. DOI: 10.1080/15476286.2016.1272746.
 28. Cucci L.M., Satriano C., Marzo T., La Mendola D. Angiogenin and copper crossing in wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(19):10704. DOI: 10.3390/ijms221910704.
 29. Cong X., Cremer C., Nachreiner T., Barth S., Carloni P. Engineered human angiogenin mutations in the placental ribonuclease inhibitor complex for anticancer therapy: Insights from enhanced sampling simulations. *Protein Science*. 2016;25(8):1451–1460. DOI: 10.1002/pro.2941.
 30. Sarangdhar M.A., Allam R. Angiogenin (ANG)-ribonuclease inhibitor (RNH1) system in protein synthesis and disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(3):1287–1293. DOI: 10.3390/ijms22031287.
 31. Janik S., Bekos C., Hacker P., Raunegger T., Schiefer A.I., Müllauer L. et al. Follistatin impacts tumor angiogenesis and outcome in thymic epithelial tumors. *Scientific Reports*. 2019;9(1):17359. DOI: 10.1038/s41598-019-53671-8.
 32. Huang Z., Yu C., Yu L., Shu H., Zhu X. The Roles of FHL3 in Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:887828. DOI: 10.3389/fonc.2022.887828.
 33. Shi P., Xu J., Cui H. The Recent Research Progress of NF- κ B signaling on the proliferation, migration, invasion, immune escape and drug resistance of glioblastoma. *International Journal of Molecular*. 2023;24(12):10337. DOI: 10.3390/ijms241210337.
 34. Wang Y.N., Lee H.H., Chou C.K., Yang W.H. Angiogenin/ribonuclease 5 Is an EGFR ligand and a serum biomarker for erlotinib sensitivity in pancreatic cancer. *Cancer Cell*. 2018;33(4):752–769.e8. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.02.012.
 35. Hoang T.T., Johnson D.A., Raines R.T., Johnson J.A. Angiogenin activates the astrocytic Nrf2/antioxidant-response element pathway and thereby protects murine neurons from oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(41):15095–15103. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008491.
 36. Yeo K.J., Jee J.G., Hwang E., Kim E.H., Jeon Y.H., Cheong H.K. Interaction between human angiogenin and the p53 TAD2 domain and its implication for inhibitor discovery. *FEBS Letters*. 2017;591(23):3916–3925. DOI: 10.1002/1873-3468.12899.
 37. Bultman K., Uebersohn A., Dickson K. Angiogenin interacts with heat shock factor 1. *FASEB Journal*. 2015;29:sp880.30. DOI: 10.1096/fasebj.29.1_supplement.880.30.
 38. Loveland A.B., Koh C.S., Ganesan R., Jacobson A., Korostelev A.A. Structural mechanism of angiogenin activation by the ribosome. *Nature*. 2024;630(8017):769–776. DOI: 10.1038/s41586-024-07508-8.
 39. Su Z., Kusc C., Malik A., Shibata E., Dutta A. Angiogenin generates specific stress-induced tRNA halves and is not involved in tRF-3-mediated gene silencing. *The Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(45):16930–16941. DOI: 10.1074/jbc.RA119.009272.
 40. Rashad S., Niizuma K., Tominaga T. tRNA cleavage: a new insight. *Neural Regeneration Research*. 2020;15(1):47–52. DOI: 10.4103/1673-5374.264447.
 41. Fu M., Gu J., Wang M., Zhang J., Chen Y., Jiang P. et al. Emerging roles of tRNA-derived fragments in cancer. *Molecular Cancer*. 2023;22(1):30–36. DOI: 10.1186/s12943-023-01739-5.
 42. Guzzi N., Bellodi C. Novel insights into the emerging roles of tRNA-derived fragments in mammalian development. *RNA Biology*. 2020;17(8):1214–1222. DOI: 10.1080/15476286.2020.1732694.
 43. Weng C., Dong H., Mao J., Lang X., Chen J. characterization and function of the interaction of angiogenin with alpha-ac-

- tinin 2. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022;9:837971. DOI: 10.3389/fmolb.2022.837971.
44. Bharadwaj A.G., Holloway R.W., Miller V.A., Waisman D.M. Plasmin and plasminogen system in the tumor microenvironment: implications for cancer diagnosis, prognosis, and therapy. *Cancers (Basel)*. 2021;13(8):1838–1845. DOI: 10.3390/cancers13081838.
45. Kushwaha A., Goswami L., Kim B.S. Nanomaterial-based therapy for wound healing. *Nanomaterials (Basel)*. 2022;12(4):618–630. DOI: 10.3390/nano12040618.
46. Veith A.P., Henderson K., Spencer A., Sligar A.D., Baker A.B. Therapeutic strategies for enhancing angiogenesis in wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2019;146:97–125. DOI: 10.1016/j.addr.2018.09.010.
47. Weng C., Dong H., Bai R., Sheng J., Chen G., Ding K. et al. Angiogenin promotes angiogenesis via the endonucleolytic decay of miR-141 in colorectal cancer. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*. 2022;27:1010–1022. DOI: 10.1016/j.omtn.2022.01.017.
48. Yang H., Yuan L., Ibaragi S., Li S., Shapiro R., Vanli N. et al. Angiogenin and plexin-B2 axis promotes glioblastoma progression by enhancing invasion, vascular association, proliferation and survival. *British Journal of Cancer*. 2022;127(3):422–435. DOI: 10.1038/s41416-022-01814-6.
49. Mao M., Chen W., Ye D. Research progress on the structure, function, and use of angiogenin in malignant tumours. *Heliyon*. 2024;10(9):e30654. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e30654.
50. Manuelli V., Pecorari C., Filomeni G., Zito E. Regulation of redox signaling in HIF-1-dependent tumor angiogenesis. *The FEBS Journal*. 2022;289(18):5413–5425. DOI: 10.1111/febs.16110.
51. Marei H.E., Althani A., Afifi N., Hasan A., Caceci T., Cifola I. et al. Glioma extracellular vesicles for precision medicine: prognostic and theragnostic application. *Discover Oncology*. 2022;13(1):49. DOI: 10.1007/s12672-022-00514-0.
52. Bárcena C., Stefanovic M., Tutusaus A., Martinez-Nieto G.A., Martinez L., García-Ruiz C. et al. Angiogenin secretion from hepatoma cells activates hepatic stellate cells to amplify a self-sustained cycle promoting liver cancer. *Scientific Reports*. 2015;5:7916. DOI: 10.1038/srep07916.
53. González L.O., Eiro N., Fraile M., Beridze N., Escaf A.R., Escaf S. et al. Prostate cancer tumor stroma: responsibility in tumor biology, diagnosis and treatment. *Cancers (Basel)*. 2022;14(18):4412. DOI: 10.3390/cancers14184412.
54. Xu L., Yan Y., Xue X., Li C.G., Xu Z.Y., Chen H.Z. Angiogenin elevates the invasive potential of squamous cell lung carcinoma cells through epithelial-mesenchymal transition. *Oncology Reports*. 2016;36(5):2836–2842. DOI: 10.3892/or.2016.5107.
55. Li S., Shi X., Chen M., Xu N. Angiogenin promotes colorectal cancer metastasis via tiRNA production. *International Journal of Cancer*. 2019;145(5):1395–1407. DOI: 10.1002/ijc.32245.
56. Duran C.L., Borriello L., Karagiannis G.S., Entenberg D., Oktay M.H., Condeelis J.S. Targeting Tie2 in the tumor microenvironment: from angiogenesis to dissemination. *Cancers (Basel)*. 2021;13(22):5730. DOI: 10.3390/cancers13225730.
57. Li Y., Qu X., Cao B., Yang T., Bao Q., Yue H. et al. Selectively suppressing tumor angiogenesis for targeted breast cancer therapy by genetically engineered phage. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*. 2020;32(29):e2001260. DOI: 10.1002/adma.202001260.
58. Rani V., Prabhu A. Combining angiogenesis inhibitors with radiation: advances and challenges in cancer treatment. *Current Pharmaceutical Design*. 2021;27(7):919–931. DOI: 10.2174/1381612826666201002145454.
59. Li D., Weng S., Zhong C., Xu D., Yuan Y. Risk of second primary cancers among long-term survivors of breast cancer. *Frontiers in Oncology*. 2019;9:1426–1435. DOI:10.3389/fonc.2019.01426.
60. Procaccio L., Damuzzo V., Di Sarra F., Russi A., Todino F., Dadduzio, V. et al. Safety and tolerability of anti-angiogenic protein kinase inhibitors and vascular-disrupting agents in cancer: focus on gastrointestinal malignancies. *Drug Safety*. 2019;42(2):159–179. DOI: 10.1007/s40264-018-0776-6.
61. Guo S., Liang Y., Liu L., Chen Q., Wen Y., Liu S. et al. Increased angiogenin expression correlates with radiation resistance and predicts poor survival for patients with nasopharyngeal carcinoma. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:627935. DOI: 10.3389/fphar.2021.627935.
62. Wang Y.N., Lee H.H., Chou C.K., Yang W.H., Wei Y., Chen C.T. et al. Angiogenin/ribonuclease 5 is an EGFR ligand and a serum biomarker for erlotinib sensitivity in pancreatic cancer. *Cancer Cell*. 2018;33(4):752–769. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.02.012.

Информация об авторах

Михалев Дмитрий Евгеньевич – ассистент, кафедра стоматологии, СибГМУ, г. Томск, dm199412@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0647-3576>

Коротенко Сергей Николаевич – аспирант, кафедра стоматологии, СибГМУ, г. Томск, dr.korotenko@mail.ru. <https://orcid.org/0009-0008-7371-318X>

Ломовских Анастасия Юрьевна – студент, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, anastasia17070316@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7162-1475>

Байдик Ольга Дмитриевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии, СибГМУ, г. Томск, olgabaidik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4748-4175>

(✉) **Михалев Дмитрий Евгеньевич**, dm199412@gmail.com

Поступила в редакцию 01.07.2024;
одобрена после рецензирования 09.17.2024;
принята к публикации 12.09.2024

УДК 616.33/34-092

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-177-186>

Маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта

Останко В.Л.¹, Калачева Т.П.¹, Кулумаева К.А.¹, Ли Н.А.², Белобородова Е.В.¹,
Пурлик И.Л.¹, Калюжина Е.В.¹, Бразовская Н.Г.¹, Калюжин В.В.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Томский областной онкологический диспансер

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115

РЕЗЮМЕ

Образ жизни современного человека, неправильное питание – факторы, влияющие на рост заболеваний органов пищеварения у людей во всем мире. Поиск новых методов ранней диагностики болезни – актуальный вопрос современной медицины. В последнее десятилетие большое внимание уделяется различным биологическим маркерам, позволяющим оценивать риск развития заболевания, ответ на терапию и возможное развитие осложнений. Биомаркеры в клинической медицине могут использоваться в качестве дополнительных инструментов, способных не только улучшить своевременную диагностику заболеваний желудочно-кишечного тракта, но и оценить эффективность проводимой терапии.

Цель настоящей лекции заключается в анализе и систематизации биомаркеров при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: биомаркер, атрофия желудка, воспалительные заболевания кишечника, рак поджелудочной железы, фекальный кальпротектин, белок, связывающий жирные кислоты, микроРНК

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: Останко В.Л., Калачева Т.П., Кулумаева К.А., Ли Н.А., Белобородова Е.В., Пурлик И.Л., Калюжина Е.В., Бразовская Н.Г., Калюжин В.В. Маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):177–186. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-177-186>.

Markers of gastrointestinal diseases

Ostanko V.L.¹, Kalacheva T.P.¹, Kulumaeva K.A.¹, Li N.A.², Beloborodova E.V.¹,
Purlik I.L.¹, Kalyuzhina E.V.¹, Brazovskaya N.G.¹, Kalyuzhin V.V.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Regional Oncology Center

115, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The lifestyle of people nowadays and poor diet are factors affecting the increasing incidence of digestive diseases in people all over the world. The search for new methods of early diagnosis of the disease is an urgent issue of modern

✉ Калачева Татьяна Петровна, tatyana-kalachyova@yandex.ru

medicine. In the last decade, much attention has been paid to various biological markers that can be used to assess the risk of disease development, the response to therapy, and the possible development of complications. Biomarkers in clinical medicine can be used as additional tools not only to improve early diagnosis of gastrointestinal diseases but also to assess the effectiveness of therapy.

The aim of this lecture was to analyze and systematize biomarkers in various gastrointestinal diseases.

Keywords: biomarker, atrophic gastritis, inflammatory bowel disease, pancreatic cancer, fecal calprotectin, fatty acid-binding protein, microRNA

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

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

For citation: Ostanko V.L., Kalacheva T.P., Kulumaeva K.A., Li N.A., Beloborodova E.V., Purlik I.L., Kalyuzhina E.V., Brazovskaya N.G., Kalyuzhin V.V. Markers of gastrointestinal diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):177–186. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-177-186>.

ВВЕДЕНИЕ

Болезни органов пищеварения – социально значимая проблема, так как уровень заболеваемости и смертности населения ежегодно растет. Данные Росстата за 2022 г. показали, что смертность от болезней органов пищеварения в Российской Федерации составляет 70,4 на 100 тыс. населения. По мнению экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к середине XXI в. болезни пищеварительной системы будут занимать ведущее место в структуре общей заболеваемости и смертности (<https://www.who.int/docs/default-source/gho-documents/world-health-statistic-reports/world-health-statistics-2014.pdf>). Одна из причин этого роста заключается в образе жизни современного человека: снижении физической активности, нерациональном питании, вредных привычках, стрессе [1].

Рост у населения болезней органов пищеварения привел к тому, что в последнее время усилия врачей направлены на выявление специфических особенностей заболевания и применение инструментов для разработки персонализированной медицины, обеспечивающей выбор наиболее эффективного и безопасного лечения для каждого пациента. Необходимость совершенствования подхода к отдельному пациенту с учетом точной характеристики его патологического состояния или его реакции на конкретное лечение является приоритетной целью персонализированной медицины [2].

Ключевым звеном концепции персонализированной медицины выступают биомаркеры. Они играют важную роль, улучшая раннее выявление пациентов из группы риска, повышая точность диагноза и облегчая выбор наилучшего терапевтического вмешательства. Кроме того, биомаркеры

имеют решающее значение для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе заболеваний, способствуя выявлению потенциальных новых терапевтических мишеней. Биомаркер – это преимущественно белок сыворотки крови, который с характерной частотой встречается при различных нарушениях, а также используется как индикатор ответа на терапию [3].

Биомаркеры использовались в клинической медицине на протяжении десятилетий. Так, еще в 2001 г. рабочая группа по биомаркерам Национального института здоровья США установила следующее понятие: «Биомаркер – это объективно измеренная или оцененная иным способом характеристика нормальных биологических процессов, патологических процессов или ответа на вмешательство» [4].

Согласно номенклатуре Biomarkers Definitions Working Group (2001), биомаркеры классифицируются на три типа:

- тип 0 отражает естественный ход заболевания и коррелирует с известными клиническими показателями в течение всей длительности заболевания;
- тип I отражает влияние терапии с учетом механизма действия лекарственного средства;
- тип II – суррогатные конечные точки, которые предсказывают клиническую эффективность или вред при использовании лекарственного средства.

Биомаркер должен отвечать требованиям концепции SMART, т. е. быть [5]:

S – specific and sensitive – чувствительным и специфичным;

M – measurable – измеряемым;

A – available and affordable – доступным;

R – responsive and reproducible – воспроизводимым;

T – timely – своевременным.

В соответствии с классификацией биомаркеров Рабочей группы по биомаркерам Food and Drug Administration (FDA) – National Institutes of Health (NIH) существуют различные типы в зависимости от их основного клинического применения: диагностические, мониторинговые, фармакодинамические, предиктивные (предсказывающие), прогностические, биомаркеры восприимчивости и безопасности (таблица) [6, 7].

Таблица

Типы биомаркеров, основанные на их основном клиническом применении [6, 7]	
Тип биомаркеров	Основные характеристики
Диагностические биомаркеры	Играют важную роль для постановки точного диагноза
Мониторинговые биомаркеры	В эту категорию входят биомаркеры, измеренные в разные моменты времени для оценки наличия и статуса заболевания. Колебания этих биомаркеров могут представлять собой инструмент для оценки прогрессирования заболеваний или эффективности терапевтического вмешательства
Фармакодинамические биомаркеры	Используются для доказательства того, что действие препарата на его ключевую мишень изменяет течение заболевания
Предиктивные (предсказывающие) биомаркеры	Позволяют предсказать ответ на терапию и (или) токсичность лекарственных препаратов
Прогностические биомаркеры	Помогают определить вероятность клинического события, рецидива или прогрессирования заболевания
Биомаркеры восприимчивости / риска	Указывают на потенциальную возможность развития болезни у человека, у которого в настоящее время нет клинически выраженного заболевания. Основное различие между этой категорией и прогностическими биомаркерами заключается в том факте, что биомаркеры восприимчивости (риска) измеряются у лиц, не имеющих заболевания
Биомаркеры безопасности	Актуальность этих биомаркеров заключается в прогнозировании токсических побочных эффектов, вызванных лекарственными препаратами, медицинскими вмешательствами или воздействием агентов окружающей среды. Токсичность может быть отражена обнаружением биомаркера или изменениями уровня биомаркера, что облегчает необходимые действия для предотвращения необратимого повреждения, такие как коррекция дозы, прерывание лечения или начало специфической терапии

Биомаркеры измеряются, как правило, в следующих биологических материалах: кровь, моча и других тканях [3, 8]. К настоящему времени множество потенциальных маркеров – белков сыворотки крови были оценены на предмет возможного применения в

диагностике болезней. К сожалению, лишь единицы используются в клинической практике. При проведении оценки биомаркера важно сопоставление его уровня с клинической картиной и другими признаками [9, 10].

В последние годы все большее число исследований направлено на выявление высокочувствительных, высокоспецифичных и малоинвазивных биомаркеров. Безусловно, стоит отметить, что для биомаркеров, используемых в целях скрининга, желательна высокая чувствительность, в то время как высокая специфичность необходима для диагностики заболеваний [8, 11, 12].

БИОМАРКЕРЫ АТРОФИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Хронический атрофический гастрит и кишечная метаплазия являются фоном, на котором могут возникнуть дисплазия и аденокарцинома. Обычно длительное время хронический атрофический гастрит протекает бессимптомно, в чем и заключается сложность ранней диагностики. Проведенные исследования продемонстрировали, что степень воспалительных и дистрофических изменений слизистой не коррелирует с наличием и выраженностью клинической симптоматики [13]. Независимо от наличия или отсутствия симптомов диспепсии должна проводиться ранняя диагностика хронического атрофического гастрита, поскольку это является профилактической мерой. В этой связи активно ведется поиск методов скрининга атрофического гастрита. Определение в сыворотке крови содержания пепсингенов и инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является оптимальным методом для этой цели [14].

Пепсиноген I (PG-I) синтезируется главными клетками слизистой оболочки желудка, и снижение его продукции является первым маркером атрофии. В случае тяжелого атрофического гастрита утрачиваются главные клетки, что ведет к снижению образования PG-I. В то же время уровень пепсиногена II (PG-II) остается относительно постоянным [15], так как PG-II секретируется не только железами дна, но и пилорическими железами антрального отдела желудка и железами Бруннера проксимального отдела двенадцатиперстной кишки. Таким образом, низкий уровень PG-I в сыворотке крови (≤ 70 нг/мл) и (или) низкое соотношение PG-I/PG-II ($\leq 3,0$) указывают на наличие хронического атрофического гастрита и высокий риск развития рака желудка [16]. В исследовании C.B. Conti и соавт. показано, что снижение уровня сывороточных пепсиногенов и уменьшение соотношения PG-I/PG-II – это признаки атрофических изменений слизистой оболочки желудка [17].

Специфичность и чувствительность лабораторного метода в диагностике хронического атрофического гастрита составляют 92,2–97,8% и 15–75% соответственно [18].

Другим биомаркером атрофии слизистой оболочки желудка является гастрин-17 (G-17). Он синтезируется и высвобождается G-клетками слизистой оболочки в ответ на прием пищи. G-17 стимулирует энтерохромаффиноподобные клетки (ECL) выделять гистамин, который дополнительно индуцирует выделение кислоты из париетальных клеток [19]. Нарушение кислотно-опосредованного ингибирования гастрина приводит к атрофическому гастриту, увеличению популяции ECL и париетальных клеток. G-17 также является пролиферативным и антиапоптотическим гормоном, который, как предполагается, играет важную роль в канцерогенезе желудка. Сообщалось, что у пациентов с раком желудка уровень G-17 в сыворотке крови выше, чем у пациентов без него [20]. Следовательно, исследование уровня G-17 в сыворотке крови может применяться с целью выявления лиц с высоким риском развития рака желудка.

Еще один важный показатель, который стоит рассмотреть – *H. pylori*: грамотрицательная бактерия с 4–8 жгутиками, расположенными полярно. Несмотря на то, что *H. pylori* не является как таковым биомаркером, так называемый хеликобактериоз имеет высокое прогностическое значение. Международное агентство по изучению рака (экспертная группа IARC) отнесло *H. pylori* к канцерогенам 1-го типа в 1994 г. [21]. Каскад канцерогенеза желудка, известный как каскад Р. Correa, представляет собой ступенчатый процесс: от нормального эпителия желудка до хронического неатрофического гастрита, хронического атрофического гастрита, кишечной метаплазии, дисплазии и рака [15]. Многие клинические испытания последних лет показали, что инфекция *H. pylori* связана с высоким риском развития рака желудка у пациентов с атрофическим гастритом и кишечной метаплазией [17]. Также была выявлена прямая связь между снижением распространенности *H. pylori* в Западной Европе, США, Японии и уменьшением заболеваемости язвенной болезнью и раком желудка [21].

Остров патогенности *cag* (*cagPAI*) и его эффекторный белок – цитотоксин, ассоциированный с геном А (*cagA*), относят к фактору вирулентности *H. pylori*. На основании наличия или отсутствия гена *cagA* в геноме *H. pylori* можно разделить на *cagA*-положительные и *cagA*-негативные штаммы. Сообщается, что лица, инфицированные *cagA*-положительными штаммами *H. pylori*, подвержены большему риску развития язвы и рака желудка, нежели инфицирован-

ные *cagA*-негативными штаммами [22]. В недавнем исследовании К.М. Миерник и соавт., проведенном у 263 пациентов на Аляске, интактный *cagPAI* был выявлен у 150 (57%) штаммов *H. pylori*, которые оказались связанными с развитием более тяжелой патологии желудка. Из 12 штаммов *H. pylori*, выделенных от пациентов с раком желудка, 10 (83%) имели интактный *cagPAI* [23].

Кроме того, *H. pylori* выделяют вакуолизирующий цитотоксин А (*VacA*). Этот порообразующий цитотоксин может разрушать митохондрии и эндосомы, изменять проницаемость плазматической мембраны, а также способствовать апоптозу в клетках, влияя на активность митохондрий. Хотя все штаммы *H. pylori* обладают геном *vacA*, некоторые виды бактерий имеют изменения в последовательности нуклеотидов, и пациенты, инфицированные штаммами, содержащими варианты *vacA s1*, *i1* или *m1*, имеют повышенный риск развития рака желудка [24].

БИОМАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА

Нарушение деятельности барьерной функции кишечника играет центральную роль в патогенезе хронического воспаления кишечника. Изменяются плотные соединения и увеличивается частота событий апоптоза. Эти дефекты барьера объясняются повышенной активностью провоспалительных цитокинов, которые высоко экспрессируются в хронически воспаленном кишечнике [25]. Вопрос о том, играют ли изменения проницаемости эпителия у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) первичную роль в патогенезе заболевания или имеет место вторичный эффект в ответ на воспаление, все еще обсуждается. ВЗК с момента своего открытия демонстрируют рост заболеваемости и распространенности, в связи с чем вопрос поиска неинвазивных, качественных и при этом недорогих биомаркеров активности кишечного воспаления становится все более актуальным. Широко признанными маркерами ВЗК являются фекальные биомаркеры. Фекальные маркеры – это группа веществ, которые вырабатываются при воспалении слизистой оболочки кишечника. Самыми многообещающими маркерами являются: фекальный кальпротектин, белок, связывающий жирные кислоты (FABP), зонулин и эозинофильный нейротоксин [26].

Белки, связывающие жирные кислоты (Fatty Acid-Binding Protein, FABP) – это семейство транспортных белков для жирных кислот и различных липофильных веществ. Эти белки облегчают перенос жирных кислот между внеклеточными и внутриклеточными мембранами. С учетом тропности к тканям,

выделяют следующие белки, связывающие жирные кислоты: адипоцитарный (А), эпидермальный (Е), кардиальный и мышечный (Н), тонкокишечный (І), печеночный (L), толстокишечный (ІІ), мозговой (В) и тестикулярный (Т) [27].

Интестинальный белок, связывающий жирные кислоты (І-FABP), присутствует исключительно в энтероцитах всей тонкой кишки. Этот небольшой цитозольный белок массой 15 кДа быстро появляется в кровотоке после повреждения эпителиальных клеток кишечника. І-FABP экспрессируется в зрелых энтероцитах, а не в криптах. Уровень интестинального белка, связывающего жирные кислоты в физиологических условиях, достаточно низкий. Н. Funaoka и соавт. определили, что значение концентрации І-FABP в сыворотке у здоровых людей составляет 2,0 нг/мл и меньше [28]. Его количество увеличивается в ответ на повреждение клеточной мембраны эпителия тонкой кишки [29]. І-FABP в течение нескольких часов после повреждения тканей циркулирует в крови и затем выводится из организма. Интестинальный белок, связывающий жирные кислоты, измеряется в сыворотке (или плазме), в моче и копрофильtrate [26]. В ряде исследований показано, что повышение концентрации І-FABP в сыворотке крови или моче ассоциировано с нарушением кишечной проницаемости и может быть маркером ранней диагностики ВЗК, целиакии и ишемического колита.

Так, данные, полученные в ходе исследования М.Р. Adriaanse и соавт., свидетельствуют о том, что сывороточный І-FABP является ранним маркером энтеропатии, вызванной глютенном, у пациентов с целиакией [30]. Кроме того, он изучался как маркер механической (странгуляционной) непроходимости тонкой кишки и некротизирующего энтероколита. В исследовании М. Schurink и соавт. было продемонстрировано, что анализ уровня белка, связывающего жирные кислоты в кишечнике, плазме, позволяет выявить пациентов с некротическим энтероколитом среди недоношенных детей с неспецифическими симптомами. Более того, у пациентов с некротическим энтероколитом повышение концентрации І-FABP является предиктором развития осложнения заболевания на первых стадиях. Его самые высокие уровни присутствуют в течение первых 24 ч после появления симптомов, а затем постепенно снижаются [31].

Следующим биомаркером повреждения слизистой оболочки кишечника является зонулин – аналог холерного токсина. Он синтезируется в печени и эпителиальных клетках кишечника [32]. В 2000 г. исследовательская группа А. Fasano сообщила об открытии зонулина, человеческого белкового аналога токсина *Zonula occludens toxin*, полученного из холерного

вибриона, регулирующего параклеточную проницаемость [33]. Основным регулятором высвобождения зонулина в кишечнике является хемокиновый рецептор 3-го типа (CXCR3), который представляет собой рецептор воспалительных хемокинов. Основная роль хемокинового рецептора 3-го типа заключается в индуцировании хемотаксиса, клеточной миграции и адгезии иммунных клеток. Также известно, что CXCR3 присутствует в собственной пластинке кишечника и эпителиальных клетках, и его экспрессия повышена у пациентов с целиакией или ВЗК [34]. Повышенные уровни зонулина, связанные с нарушением барьерных функций слизистой оболочки, были также описаны при синдроме раздраженного кишечника и некротизирующем энтероколите [35]. Степень изменения концентрации зонулина в различных биологических средах (кровь, кал) не всегда совпадает и зависит от формы патологии. Например, у больных язвенным колитом сывороточный зонулин более предпочтителен как маркер повышенной проницаемости кишки, нежели фекальный. У ВИЧ-серопозитивных пациентов с гастроинтестинальными симптомами, напротив, уровень фекального зонулина значительно превышает плазменный [36].

Еще один маркер кальпротектин – противомикробный, иммуномодулирующий и антипролиферативный белок с массой 36 кДа, входящий в семейство белков S100. Он содержится в мембранах макрофагов, в цитоплазме нейтрофилов, в моноцитах, а также в эпителиальных клетках слизистой оболочки. Впервые кальпротектин был описан в 1980 г. Он представляет собой гетеродимер, состоящий из белков S100A8 и S100A9. Антимикробные эффекты кальпротектина связаны с его способностью хелатировать ионы металлов. А его концентрация в кале примерно в 6 раз выше, чем в плазме [37]. Этот белок устойчив во внешней среде и сохраняется в кале до 7 сут. У здоровых лиц кальпротектин в кале определяется в малых количествах [6].

Содержание кальпротектина в различных биоматериалах организма прямо пропорционально степени воспаления. Определение уровня фекального кальпротектина используется как один из диагностических критериев ВЗК. Неспособность контролировать воспалительную активность при ВЗК связана как с ухудшением качества жизни пациентов, так и с худшими долгосрочными исходами (повышенный риск канцерогенеза толстой кишки). Следовательно, предотвращение клинического рецидива и долгосрочное поддержание ремиссии имеют большое значение [37]. Согласно последней концепции, клиническая ремиссия должна сопровождаться биологическими и эндоскопическими доказательствами

отсутствия воспалительной активности слизистой оболочки у пациентов с ВЗК. На биологическую неактивность может указывать отсутствие маркеров воспаления в периферической крови или кале (кальпротектин), тогда как заживление слизистой оболочки является наиболее приемлемой эндоскопической целью. Обычно используемые биомаркеры, такие как С-реактивный белок и скорость оседания эритроцитов, не обладают приемлемой чувствительностью и специфичностью. Фекальный кальпротектин обладает высокой отрицательной прогностической ценностью при исключении ВЗК у недиагностированных пациентов с симптомами и высокой чувствительностью к диагностике заболевания [38]. В метаанализе Т. Rokkas и соавт. было продемонстрировано, что для уровня фекального кальпротектина при ВЗК, равном 50 мкг/г, достигнута наилучшая чувствительность (90,6%), тогда как наилучшая специфичность (78,2%) обнаружена при уровнях >100 мкг/г [39]. Таким образом, постепенно появляется все больше доказательств того, что оценка фекального кальпротектина может быть полезной для мониторинга активности заболевания и ответа на терапию, а также для прогнозирования рецидива.

МикроРНК (miRNAs) находятся в центре внимания многих научных групп в течение последних 10 лет. Значительный уровень научных доказательств подчеркивает функциональную роль и потенциальную ценность малых молекул РНК. МикроРНК – это небольшие некодирующие РНК, состоящие из 18–25 нуклеотидов. В настоящее время miRNAs исследуются в качестве биомаркеров ВЗК [40]. Во-первых, хорошо известно, что микроРНК являются функциональными молекулами, в которых могут происходить нарушения на ранних стадиях течения заболевания. Во-вторых, дерегулирование микроРНК может вызывать значительные изменения в экспрессии генов и способствовать развитию воспалительных и неопластических состояний. В-третьих, микроРНК – это уникальные молекулы с невероятной устойчивостью к деградации [41]. Различные исследования неоднократно показывали, что ВЗК связаны с изменениями экспрессии микроРНК в слизистой оболочке толстой кишки. В дополнение к их потенциальной роли в мониторинге активности заболевания, будь то клиническая, биохимическая или эндоскопическая активность [40], микроРНК также могут использоваться в качестве предикторов ответа на терапию. При оценке пациентов с тяжелым язвенным колитом, которые не реагировали на начальную терапию кортикостероидами, I. Morilla и соавт. идентифицировали 15 микроРНК, связанных с ответом на кортикостероиды, шесть микроРНК – на

инфликсимаб, четыре микроРНК – на циклоспорин, тем самым подчеркивая роль микроРНК как предиктора ответа на терапию при ВЗК [41].

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Заболевания печени на протяжении многих лет – основная причина смерти от болезней органов пищеварения в России. Ежегодно в мире от цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) умирает около 2 млн человек (Global Cancer Statistics 2022).

К основным факторам поражения печени относят воздействие алкоголя и лекарственных препаратов, инфицирование вирусами гепатитов А, В, С, D, Е, а также метаболические нарушения. Согласно данным изученной литературы, более половины пациентов, злоупотребляющих алкоголем, страдают токсическим поражением печени, в дальнейшем циррозом печени, а через 10 лет от начала злоупотребления алкоголем – ГЦК [42]. По данным ВОЗ, распространенность ожирения увеличилась с 4,6% в 1980 г. до 14,0% в 2020 г. В связи с чем неудивителен рост частоты неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). В 2020 г. был введен новый термин «метаболически ассоциированная жировая болезнь печени» [43]. Рост заболеваний печени ведет к необходимости поиска новых методов ранней диагностики. Для оценки патологического состояния и прогрессирования заболевания может использоваться ряд сывороточных биомаркеров.

Перспективными биомаркерами для диагностики повреждения печени, которые были поддержаны FDA, являются: общий цитокератин 18 (K18), глутаматдегидрогеназа (GLDH) и микроРНК-122 (miR-122) [44]. В исследовании R.J. Church и соавт. была выявлена положительная корреляция между активностью GLDH и активностью аланинаминотрансферазы (АЛТ). Уровни K18 и miR-122 также положительно коррелировали с активностью АЛТ. Это позволяет предположить, что эти биомаркеры положительно связаны с цитолитическим синдромом [45].

Клиническим стандартом для оценки повреждения печени является измерение уровня АЛТ и аспаратаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови, отражающее повреждение гепатоцитов, приводящее к выбросу этих ферментов в кровь. Несмотря на широкое клиническое применение, эти тесты имеют важные ограничения. Во-первых, ферменты не являются абсолютно специфичными для гепатоцитов. АСТ экспрессируется в печени, сердечной и скелетных мышцах, почках, головном мозге, поджелудочной железе, легких. АЛТ – внутриклеточный фермент, который преимущественно находится в клетках печени, почках, с незначительными количествами в

сердце и скелетных мышцах. Во-вторых, ферменты печени не всегда отражают всю тяжесть заболевания [46]. Данные исследования Н.Р. Llewellyn и соавт. демонстрируют, что панель, состоящая из нескольких биомаркеров (GLDH, K18 и miR-122), позволяет дифференцировать пациентов с мышечными дистрофиями и пациентов с патологией печени, тем самым демонстрируя значительные преимущества по сравнению с измерением АЛТ [44].

MiR-122 – это наиболее распространенная специфичная для печени микроРНК (составляет 70% от общего пула микроРНК печени), существующая в двух зрелых изоформах: miR-122-3p и miR-122-5p. Дефицит miR-122 приводит к воспалению, холестазу и, в конечном счете, фиброзу печени. MiR-122 регулирует путь синтеза и окисления холестерина и жирных кислот, а также участвует в пролиферации и дифференцировке гепатоцитов. M.I. Kan Changez и соавт. в своем исследовании показали, что у пациентов с НАЖБП, страдающих ожирением, наблюдается более высокая экспрессия miR-122-5p в печени [47]. Стоит обратить внимание, что уровень miR-122 в печени повышается на ранних стадиях развития неалкогольной жировой болезни печени, а затем постепенно снижается с прогрессированием неалкогольного стеатогепатита и развитием фиброза [47].

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Заболевания поджелудочной железы являются серьезной проблемой для системы здравоохранения в XXI в. К факторам риска поражения поджелудочной железы относятся: употребление пищи с большим количеством жиров, избыточная масса тела, ожирение, а также злоупотребление алкоголем и курение. Во всем мире в течение последних нескольких десятилетий ожирение является актуальной медико-социальной проблемой, которая приобрела характер неинфекционной пандемии [48]. Ожирение статистически достоверно относится к факторам риска развития рака поджелудочной железы (РПЖ).

Метаанализ, представленный D. Aune и соавт. в 2021 г., в который были включены 10 проспективных исследований с 1 693 657 участниками, показал, что увеличение индекса массы тела на 5 кг/м² ассоциировано с ростом относительного риска острого панкреатита на 18% (95%-й ДИ: 1,03–1,35), а увеличение окружности талии на 10 см повышает его риск на 36% (95%-й ДИ: 1,29–1,43) [49].

Важно понимание механизмов, с помощью которых ожирение влияет на начало и прогрессирование заболеваний поджелудочной железы. Основными механизмами является усиление воспаления и некро-

за из-за увеличения количества внутри- и перипанкреатического жира. Было высказано предположение, что, как и при панкреатите, создание воспалительного микроокружения приводит к росту онкогенно трансформированных клеток, способствуя привлечению иммунных клеток, вызывающих развитие опухоли [48]. Сложность ранней диагностики РПЖ заключается в том, что заболевание обычно длительно протекает бессимптомно, и потому выявляется поздно, когда лечение уже неэффективно, способствуя плохим результатам выживания. В качестве вспомогательных тестов для скрининга, диагностики РПЖ все чаще в исследованиях концентрируется внимание на необходимости поиска потенциальных сывороточных биомаркеров.

CA19-9 – тетрасахарид, экспрессирующийся на поверхности раковых клеток. Это наиболее известный серологический биомаркер, используемый в диагностике РПЖ. Первоначально он был описан в 1979 г. как опухолевый антиген, распознаваемый моноклональным антителом NS19-9 в клеточной линии колоректального рака [50]. CA19-9 относится к антигенам группы крови Льюиса (Lewis), и он экспрессируется только у тех пациентов, которые принадлежат к группам крови Льюиса (α - β +) или (α + β -). Около 5–10% населения имеют фенотип Le (α - β -), в котором отсутствует необходимый для выработки CA19-9 фермент – 1,4-фукозилтрансфераза. Известно, что уровень CA19-9 повышен только у 70–80% пациентов с РПЖ. При этом нормальный уровень CA19-9 не исключает РПЖ [51]. Онкомаркер CA19-9 обладает низкой специфичностью для РПЖ, поскольку он также повышается при раке толстой кишки, желудка, печени, легких и яичников. Также в различных исследованиях было продемонстрировано, что уровень CA19-9 повышен при доброкачественных состояниях, таких как хронический панкреатит, киста поджелудочной железы, обструкция желчевыводящих путей и холангит [52]. Верхний диапазон CA19-9 составляет более 37–40 Ед/мл. Установлено, что 80–90% пациентов с РПЖ III–IV стадии имеют уровни CA19-9 > 100 Ед/мл, а пациенты с I–II стадиями опухоли имеют более низкие значения CA19-9 [53].

Согласно данным литературы, гораздо значительнее уровень CA19-9 повышается при РПЖ, нежели при хроническом панкреатите. В связи с чем для дифференциальной диагностики онкопатологии и хронического панкреатита необходимо использовать более высокие пороговые значения (>100 Ед/мл) [54]. В своей работе Y. Liang и соавт. выявили, что у пациентов с РПЖ при уровне CA19-9 в сыворотке крови ≥ 1000 Ед/мл наблюдается метастазирование в лимфатические узлы [55].

Наконец, рассмотрим сывороточный онкомаркер СА242, представляющий собой углеводный антиген, содержащий сиаловую кислоту [56]. Повышенная концентрация СА242 в сыворотке крови >20 Ед/мл обнаруживается при РПЖ (чувствительность варьирует от 41 до 75% и специфичность составляет 85–95%), тогда как при доброкачественных заболеваниях уровень онкомаркера повышается незначительно [11]. СА242 обладает следующими преимуществами по сравнению с СА19-9: более высокой специфичностью при диагностике РПЖ, а также его уровень не зависит от экспрессии антигенов Льюиса [57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обсуждаемые биомаркеры могут использоваться в качестве дополнительных инструментов, способных не только обеспечить своевременное распознавание заболеваний желудочно-кишечного тракта, но повысить точность оценки эффективности проводимой терапии. При этом необходимо учитывать, что клиническая значимость различных исследований в целом ограничена, учитывая, что они фокусируются на отдельных биомаркерах, представляющих только один из нескольких признаков в рамках конкретного патологического состояния. В связи с чем одним из перспективных подходов было бы объединение множества маркеров в мультимаркерную панель для повышения их диагностической и прогностической ценности, что позволило бы улучшить ведение конкретного случая.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Еганян Р.А., Кушунина Д.В., Калинина А.М. Актуальность и результативность раннего выявления заболеваний органов пищеварения при диспансеризации взрослого населения России. *Профилактическая медицина*. 2017;20(3):22–27. DOI: 10.17116/profmed201720322-27.
- Adamcova M., Šimko F. Multiplex biomarker approach to cardiovascular diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2018;39(7):1068–1072. DOI: 10.1038/aps.2018.29.
- Ranjbar R., Ghasemian M., Maniati M., Khatami S.H., Jamali N., Taheri-Anganeh M. Gastrointestinal disorder biomarkers. *Clinica Chimica Acta*. 2022;530:13–26. DOI: 10.1016/j.cca.2022.02.013.
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2001;69(3):89–95. DOI: 10.1067/mcp.2001.113989.
- Садвакас А.С. Современные концепции идеальных биомаркеров в медицине. *Современная медицина: актуальные вопросы*. 2014;5(31):230–231.
- Козлова И.В., Кудишина М.М., Пахомова А.Л. Биомаркеры воспалительных заболеваний кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2018;157(9):4–9. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-157-9-4-9.
- FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016. Predictive Biomarker. 2016.URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402283/> Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD).
- Варванина Г.Г., Лесько К.А., Бордин Д.С., Дубцова Е.А., Малых М.В., Носкова К.К. и др. Диагностическое значение биомаркеров и компьютерной томографии в дифференциальной диагностике рака поджелудочной железы и хронического панкреатита. *Доказательная гастроэнтерология*. 2021;10(4):12–21. DOI: 10.17116/dokgastro20211004112.
- Fu S., Wu D., Jiang W., Li J., Long J., Jia C. et al. Molecular Biomarkers in Drug-Induced Liver Injury: Challenges and Future Perspectives. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;10:1667. DOI: 10.3389/fphar.2019.01667.
- Конради А.О. Биомаркеры, их типы и основы применения в персонализированной медицине. *Российский журнал персонализированной медицины*. 2022;2(3):6–16. DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-3-6-16.
- Baniak N., Senger J.L., Ahmed S., Kanthan S.C., Kanthan R. Gastric biomarkers: a global review. *World Journal of Surgical Oncology*. 2016;14(1):212. DOI: 10.1186/s12957-016-0969-3.
- Durães C., Almeida G.M., Seruca R., Oliveira C., Carneiro F. Biomarkers for gastric cancer: prognostic, predictive or targets of therapy? *Virchows Archiv*. 2014;464(3):367–378. DOI: 10.1007/s00428-013-1533-y.
- Бакулина Н.В., Тихонов С.В., Лищук Н.Б. Хронический гастрит и функциональная диспепсия. Единство и борьба двух противоположностей. *Медицинский совет*. 2021;(15):164–174. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-15-164-174.
- Цуканов В.В., Тонких Ю.Л., Васютин А.В., Перетятко О.В., Пуликов А.С., Барон И.И. Структура слизистой оболочки желудка у пациентов с различными концентрациями и соотношениями пепсиногенов в сыворотке крови. *Медицинский совет*. 2018;(14):114–117. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-14-114-117.
- Корноухова Л.А., Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л., Никонов Е.Л. Инфекция *Helicobacter pylori*: место серологической и культуральной диагностики в клинических рекомендациях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(8):496–501. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-8-496-501.
- Tu H., Sun L., Dong X., Gong Y., Xu Q., Jing J. et al. A Serological Biopsy Using Five Stomach-Specific Circulating Biomarkers for Gastric Cancer Risk Assessment: A Multi-Phase Study. *The American Journal of Gastroenterology*. 2017;112(5):704–715. DOI: 10.1038/ajg.2017.55.
- Conti C.B., Agnesi S., Scaravaglio M., Masseria P., Dinelli M.E., Oldani M. et al. Early Gastric Cancer: Update on Prevention, Diagnosis and Treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023;20(3):2149. DOI: 10.3390/ijerph20032149.
- Куваев Р.О., Кашин С.В., Никонов Е.Л., Itoh T., Gotoda T., Gono K. Ранний рак желудка: современные методики скрининга, эндоскопической диагностики и малоинвазивного лечения. *Доказательная гастроэнтерология*. 2014;3(3):44–51.
- Duan S., Rico K., Merchant J.L. Gastrin: from physiology to

- gastrointestinal malignancies. *Function (Oxford, England)*. 2021;3(1):zqab062. DOI: 10.1093/function/zqab062.
20. Shen H., Xiong K., Wu X., Cheng S., Lou Q., Jin H. et al. The diagnostic value of serum gastrin-17 and pepsinogen for gastric cancer screening in eastern China. *Gastroenterology Research and Practice*. 2021; 2021: 6894248. DOI: 10.1155/2021/6894248.
 21. Бордин Д.С., Шенгелия М.И., Иванова В.А., Войнован И.Н. *Helicobacter pylori*: клиническое значение и принципы диагностики. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2022;11(1):119–129. DOI: 10.33029/2305-3496-2022-11-1-119-129.
 22. Ansari S., Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* virulence factor cytotoxin-associated gene A (CagA)-mediated gastric pathogenicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(19):7430. DOI: 10.3390/ijms21197430.
 23. Miernyk K.M., Bruden D., Rudolph K.M., Hurlburt D.A., Sacco F., McMahon B.J. et al. Presence of cagPAI genes and characterization of vacA s, i and m regions in *Helicobacter pylori* isolated from Alaskans and their association with clinical pathologies. *Journal of Medical Microbiology*. 2020;69(2):218–227. DOI: 10.1099/jmm.0.001123.
 24. Muzahed. *Helicobacter pylori* oncogenicity: mechanism, prevention, and risk factors. *The Scientific World Journal*. 2020;2020:1–10. DOI: 10.1155/2020/3018326.
 25. Хавкин А.И., Новикова В.П., Шаповалова Н.С. Перспективные неинвазивные биомаркеры: интестинальные белки в диагностике повреждений слизистой оболочки кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;188(4):155–160. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-188-4-155-160.
 26. Приходченко Н.Г., Шуматова Т.А., Зернова Е.С., Ни А.Н., Сергеева Е.В. Фекальные биомаркеры: диагностическая значимость и перспективы при аллергических заболеваниях желудочнокишечного тракта. *Медицинский оппонент*. 2022;4(20):42–48.
 27. Звягин А.А., Бавыкина И.А., Настаушева Т.Л., Бавыкин Д.В. Интестинальный белок, связывающий жирные кислоты, как перспективный маркер проницаемости тонкой кишки. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020;65(6):29–33. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-6-29-33.
 28. Funaoka H., Kanda T., Fujii H. Intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases. *Rinsho Byori the Japanese Journal of Clinical Pathology*. 2010;58(2):162–168.
 29. Ливзан М.А., Гаус О.В. Содержание фекального зонулина – биомаркер синдрома кишечной проницаемости у больных синдромом раздраженного кишечника (обзор и результаты пилотного исследования). *Доказательная гастроэнтерология*. 2021;10(3):47–55. DOI: 10.17116/dokgastro20211003147.
 30. Adriaanse M.P., Leffler D.A., Kelly C.P., Schuppan D., Najarian R.M., Goldsmith J.D. et al. Serum I-FABP detects gluten responsiveness in adult celiac disease patients on a short-term gluten challenge. *The American Journal of Gastroenterology*. 2016;111(7):1014–1022. DOI: 10.1038/ajg.2016.162.
 31. Schurink M., Kooy E.M., Hulzebos C.V., Kox R.G., Groen H., Heineman E. et al. Intestinal fatty acid-binding protein as a diagnostic marker for complicated and uncomplicated necrotizing enterocolitis: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2015;10(3). DOI: 10.1371/journal.pone.0121336.
 32. Veres-Székely A., Szász C., Pap D., Szebeni B., Bokrossy P., Vannay Á. Zonulin as a potential therapeutic target in microbiota-gut-brain axis disorders: encouraging results and emerging questions. *The International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(8):7548. DOI: 10.3390/ijms24087548.
 33. Fasano A., Not T., Wang W., Uzzau S., Berti I., Tommasini A. et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in celiac disease. *Lancet*. 2000;355(9214):1518–1519. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3.
 34. Haghbin M., Rostami-Nejad M., Forouzesh F., Sadeghi A., Rostami K., Aghamohammadi E. et al. The role of CXCR3 and its ligands CXCL10 and CXCL11 in the pathogenesis of celiac disease. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(25):e15949. DOI: 10.1097/MD.00000000000015949.
 35. Rezazadegan M., Soheilipour M., Tarrahi M.J., Amani R. Correlation Between Zinc Nutritional Status with Serum Zonulin and Gastrointestinal Symptoms in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome: A Case-Control Study. *Digestive Diseases and Sciences*. 2022;67(8):3632–3638. DOI: 10.1007/s10620-021-07368-6.
 36. Zhang Y.G., Xia Y., Lu R., Sun J. Inflammation and intestinal leakiness in older HIV+ individuals with fish oil treatment. *Genes & Diseases*. 2018;5(3):220–225. DOI: 10.1016/j.gendis.2018.07.001.
 37. Li J., Xu M., Qian W., Ling F., Chen Y., Li S. et al. Clinical value of fecal calprotectin for evaluating disease activity in patients with Crohn's disease. *Frontiers in Physiology*. 2023;14:1186665. DOI: 10.3389/fphys.2023.1186665.
 38. Ayling R.M., Kok K. Fecal calprotectin. *Advances in Clinical Chemistry*. 2018;87:161–190. DOI: 10.1016/bs.acc.2018.07.005.
 39. Rokkas T., Portincasa P., Koutroubakis I.E. Fecal calprotectin in assessing inflammatory bowel disease endoscopic activity: a diagnostic accuracy meta-analysis. *The Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. 2018;27(3):299–306. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.273.pti.
 40. Cordes F., Demmig C., Bokemeyer A., Brückner M., Lenze F., Lenz P. et al. MicroRNA-320a monitors intestinal disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2020;11(3):e00134. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000134.
 41. Morilla I., Uzzan M., Laharie D., Cazals-Hatem D., Denost Q., Daniel F. et al. Colonic microRNA profiles, identified by a deep learning algorithm, that predict responses to therapy of patients with acute severe ulcerative colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019;17(5):905–913. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.08.068.
 42. Teschke R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects. *Biomedicines*. 2018;6(4):106. DOI: 10.3390/biomedicines6040106.
 43. Zeng M., Chen L., Li Y., Mi Y., Xu L. Problems and challenges associated with renaming non-alcoholic fatty liver disease to metabolic associated fatty liver disease. *Medicine (Baltimore)*. 2023;3(3):105–113. DOI: 10.1097/ID9.0000000000000085.
 44. Llewellyn H.P., Vaidya V.S., Wang Z., Peng Q., Hyde C., Pot-

- ter D. et al. Evaluating the sensitivity and specificity of promising circulating biomarkers to diagnose liver injury in humans. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2021;181(1):23–34. DOI: 10.1093/toxsci/kfab003.
45. Church R.J., Kullak-Ublick G.A., Aubrecht J., Bonkovsky H.L., Chalasani N., Fontana R.J. et al. Candidate biomarkers for the diagnosis and prognosis of drug-induced liver injury: An international collaborative effort. *Journal of Hepatology*. 2019;69(2):760–773. DOI: 10.1002/hep.29802.
46. Lehmann-Werman R., Magenheimer J., Moss J., Neiman D., Abraham O., Piyanzin S. et al. Monitoring liver damage using hepatocyte-specific methylation markers in cell-free circulating DNA. *JCI Insight*. 2018;3(12):e120687. DOI: 10.1172/jci.insight.120687.
47. Kan Changez M.I., Mubeen M., Zehra M., Samnani I., Abdul Rasool A., Mohan A. et al. Role of microRNA in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a comprehensive review. *Journal of International Medical Research*. 2023;51(9):3000605231197058. DOI: 10.1177/03000605231197058.
48. Lilly A.C., Astsaturou I., Golemis E.A. Intrapancreatic fat, pancreatitis, and pancreatic cancer. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023;80(8):206. DOI: 10.1007/s00018-023-04855-z.
49. Aune D., Mahamat-Saleh Y., Norat T., Riboli E. High Body Mass Index and Central Adiposity Is Associated with Increased Risk of Acute Pancreatitis: A Meta-Analysis. *Digestive Diseases and Sciences*. 2021;66(4):1249–1267. DOI: 10.1007/s10620-020-06275-6.
50. O'Neill R.S., Stoita A. Biomarkers in the diagnosis of pancreatic cancer: Are we closer to finding the golden ticket? *World Journal of Gastroenterology*. 2021;27(26):4045–4087. DOI: 10.3748/wjg.v27.i26.4045.
51. Pereira S.P., Oldfield L., Ney A., Hart P.A., Keane M.G., Pandol S.J. et al. Early detection of pancreatic cancer. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2020;5(7):698–710. DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30416-9.
52. Binicier O.B., Pakoz Z.B. CA 19-9 levels in patients with acute pancreatitis due to gallstone and metabolic/toxic reasons. *Revista da Associacao Medica Brasileira*. 2019;65(7):965–970. DOI: 10.1590/1806-9282.65.7.965.
53. Lee T., Teng T.Z.J., Shelat V.G. Carbohydrate antigen 19-9-tumor marker: Past, present, and future. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2020;12(12):468–490. DOI: 10.4240/wjgs.v12.i12.468.
54. Janga L.S.N., Sambe H.G., Yasir M., Man R.K., Gogikar A., Nanda A. et al. Holistic Understanding of the Role of Carbohydrate Antigen 19-9 in Pancreatic Cancer Screening, Early Diagnosis, and Prognosis: A Systematic Review. *Cureus Journal of Medical Science*. 2023;15(8):e44382. DOI: 10.7759/cureus.44382.
55. Liang Y., Chang S., Guo H., Man Q., Zang F., Gao S. Presence of tumor deposits is an indicator of poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *The American Journal of Cancer Research*. 2023;13(5):1970–1984.
56. Dong D., Jia L., Zhang L., Ma N., Zhang A., Zhou Y. et al. Periostin and CA242 as potential diagnostic serum biomarkers complementing CA19.9 in detecting pancreatic cancer. *Cancer Science*. 2018;109:2841–2851. DOI: 10.1111/cas.13712.
57. Gu Y.L., Lan C., Pei H., Yang S.N., Liu Y.F., Xiao L.L. Applicative value of sdrum CA19-9, CEA, CA125 and CA242 in diagnosis and prognosis for patients with pancreatic cancer treated by concurrent chemoradiotherapy. *The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;16(15):6569–6573. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.15.6569.

Информация об авторах

Останко Валентина Леонидовна – канд. мед. наук, доцент кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, valentina209@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9950-721X>

Калачева Татьяна Петровна – канд. мед. наук, доцент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, tatyana-kalachyova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4292-7723>

Кулумаева Карина Альбертовна – ординатор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, karina.kulumaeva12@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0002-5933-3873>

Ли Наталья Анатольевна – зав. отделением эндоскопии, Томский областной онкологический диспансер, г. Томск, nat.an.li@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5733-8561>

Белобородова Екатерина Витальевна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, belobekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8776-5924>

Пурлик Игорь Леонидович – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии СибГМУ, г. Томск, igor0812@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3757-0173>

Калюжина Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

Бразовская Наталья Георгиевна – канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, brang@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0706-9735>

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>

(✉) **Калачева Татьяна Петровна**, tatyana-kalachyova@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.05.2024;
одобрена после рецензирования 15.05.2024;
принята к публикации 13.06.2024

УДК 616.72-002-092

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-187-196>

Роль медиаторов в формировании ведущих патологических процессов при псориатическом артрите

**Погонченкова Д.А., Четверня Л.В., Васильева О.А., Кононова Т.Е., Полетика В.С.,
Абрамов В.К., Чумакова С.П., Елисеева Л.В., Уразова О.И.**

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

РЕЗЮМЕ

В лекции проанализированы результаты исследований, касающихся роли гуморальных и клеточных медиаторов, их взаимодействия, а также дисбаланса ангиогенных факторов при псориатическом артрите. Информация структурирована в соответствии с выделением ведущих типовых патологических процессов: воспаления и нарушений микроциркуляции, формирующихся за счет активации белковых каскадов и взаимодействия молекулярных провоспалительных медиаторов и ангиогенных факторов. Известно, что клинические фенотипы псориатического артрита многообразны. Глубокое понимание патогенеза и динамики изменений в преобладании одного патологического процесса над другим может стать основой для разработки персонализированного патогенетически обоснованного терапевтического подхода с минимизацией ятрогенных осложнений и экономических издержек, а также внедрения современных диагностических методов для верификации, дифференциации и мониторинга активности псориатического артрита с целью своевременной коррекции медикаментозной стратегии.

Ключевые слова: псориатический артрит, воспаление, микроциркуляция, гуморальные медиаторы, С-реактивный белок, система комплемента, брадикинин, эйкозаноиды, цитокины, ангиогенные факторы

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

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

Для цитирования: Погонченкова Д.А., Четверня Л.В., Васильева О.А., Кононова Т.Е., Полетика В.С., Абрамов В.К., Чумакова С.П., Елисеева Л.В., Уразова О.И. Роль медиаторов в формировании ведущих патологических процессов при псориатическом артрите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):187–196. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-187-196>.

The role of mediators in the formation of leading pathological processes in psoriatic arthritis

**Pogonchenkova D.A., Chetvernya L.V., Vasilyeva O.A., Kononova T.E., Poletika V.S.,
Abramov V.K., Chumakova S.P., Eliseeva L.V., Urazova O.I.**

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

ABSTRACT

The lecture analyzes the results of research on the role of humoral and cellular mediators, their interaction, as well as the imbalance of angiogenic factors in psoriatic arthritis. The information is presented with identification of the

✉ Погонченкова Дарья Александровна, pogonchenkova.da@ssmu.ru

leading typical pathological processes: inflammation and microcirculation disorders, formed due to the activation of protein cascades and interaction of molecular proinflammatory mediators and angiogenic factors. It is known that the clinical phenotypes of psoriatic arthritis are diverse. A deeper understanding of the pathogenesis and changes in the predominant pathological process can become the basis for the development of a personalized treatment strategy based on the pathogenesis to minimize iatrogenic complications and economic costs, as well as for the introduction of modern diagnostic methods for verification, differentiation, and monitoring of psoriatic arthritis in order to timely correct drug treatment.

Keywords: psoriatic arthritis, inflammation, microcirculation, humoral mediators, C-reactive protein, complement system, bradykinin, eicosanoids, cytokines, angiogenic factors

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

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

For citation: Pogonchenkova D.A., Chetvernya L.V., Vasilyeva O.A., Kononova T.E., Poletika V.S., Abramov V.K., Chumakova S.P., Eliseeva L.V., Urazova O.I. The role of mediators in the formation of leading pathological processes in psoriatic arthritis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):187–196. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-187-196>.

ВВЕДЕНИЕ

Псориатический артрит – аутоиммунное, мультифакторное, системное заболевание, ассоциированное с псориазом [1]. Клиническое течение псориатического артрита гетерогенно, проявляющееся от изолированного вовлечения суставов (дистальный межфаланговый артрит с относительно доброкачественным течением или мутилирующий артрит, характеризующийся злокачественной прогрессией с остеоллизисом костной ткани и формированием костных анкилозов) [2, 3] до комбинаций суставного синдрома с поражением осевого скелета (сacroи-лит, спондилит) [4], скелетно-мышечными паттернами (энтезит, дактилит, теносиновит) [5–7] или вне-скелетными экстраартикулярными проявлениями (передний увеит, нейрохориоретинит, неспецифический колит и др.) [8, 9]. Несмотря на общепринятую терминологию, в научной литературе можно встретить синоним «псориатическая болезнь», акцентирующий внимание на системном характере распространения процесса [10].

Установление диагноза бывает затруднено ввиду отсутствия специфических лабораторных маркеров и патогномоничных симптомов. Верификация диагноза основана на соответствии клинико-лабораторных и рентгенологических признаков классификационным критериям Caspar (Classification of Psoriatic Arthritis). Следует отметить, что критерии Caspar имеют существенные ограничения при проведении дифференциальной диагностики раннего артрита [11].

Затруднения могут возникнуть в группе пациентов без манифестации псориаза кожи или с симметричным ревматоидноподобным подтипом псори-

атического артрита, а также в группе пациентов с моно- или олигоартритом, с положительным ревматоидным фактором и (или) антителами к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и минимальными кожными проявлениями, что нередко становится причиной ошибочной верификации [12]. Кроме этого, используемые в реальной клинической практике шкалы активности DAPSA (Disease Activity in Psoriatic Arthritis) вызывают обоснованную критику как инструменты с ограниченной воспроизводимостью и низкой прогностической чувствительностью [13]. Диагностические и терапевтические подходы также требуют переосмысления с учетом современных фундаментальных знаний в области протеомики и молекулярно-клеточной биологии.

В этой связи целью настоящей лекции явились обобщение и систематизация актуальных данных о роли ключевых гуморальных и клеточных медиаторов и последовательности их взаимодействия при инициации воспалительного процесса и микроциркуляторных нарушений при псориатическом артрите.

ГУМОРАЛЬНЫЕ МЕДИАТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ПСОРИАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ

В настоящее время накоплено большое количество научных данных, свидетельствующих о том, что кроме общих закономерностей, воспалительный процесс при псориатическом артрите обладает специфическими характеристиками, обусловленными репертуаром медиаторов. Это обосновывает выделение данного заболевания в самостоятельную нозологическую единицу. Клинические фенотипы псориатического артрита находятся в зависимости

от множественной и перекрестной индуцибельной экспрессии медиаторов, последовательности формирования медиаторных сетей, продолжительности смодулированного эффекта и распространенности его действия (системное или ограниченное топографической областью), степени выраженности дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных регуляторов [14, 15].

С-реактивный белок (СРБ) – медиатор острой фазы воспаления и ведущий маркер при оценке активности псориатического артрита [16]. СРБ активирует ранние компоненты системы комплемента по классическому пути, может ингибировать альтернативный путь активации комплемента, препятствуя формированию мембраноатакующего комплекса [17, 18]. Функциональный диапазон не ограничен гуморальными эффектами, так как СРБ участвует в построении гуморально-клеточных провоспалительных сетей. СРБ за счет взаимодействия с рецептором Fcγ на мембранах клеток миелоидного происхождения модулирует выработку интерлейкина (IL) 1β и фактора некроза опухоли (TNF) α. Кроме этого, СРБ стимулирует выработку активных форм кислорода [19].

Роль СРБ в патогенезе псориатического артрита на сегодняшний день требует уточнения. Исследования, результаты которых внедрены в клиническую практику, сопоставляли уровень общего и высокочувствительного СРБ с активностью воспалительного процесса, не учитывая влияния пептидных изоформ. При этом следует понимать, что изоформы СРБ могут обладать противоположными биологическими эффектами [20, 21]. Например, мономерная изоформа СРБ (mСРБ) способна аккумулироваться в тканях и усиливать локальное воспаление, тогда как нативная изоформа СРБ (nСРБ) превалирует в системном кровотоке [22]. На модели ревматоидного артрита было продемонстрировано накопление mСРБ в клетках синовиальной оболочки [23], для псориатического артрита аналогичных исследований не осуществлялось. Также nСРБ опсонизирует апоптотические клетки, запуская процесс фагоцитоза [24].

Система комплемента при псориатическом артрите является важным звеном для инициации и поддержания воспаления [25]. Обладая аддитивным потенциалом по отношению к другим медиаторам, система комплемента участвует в построении молекулярной основы для клинической манифестации заболевания. Повышение компонентов С3, С4 в крови и С3 в синовиальной жидкости обеспечивает активацию фагоцитов в сосудистом русле и стимуляцию эффекторных клеток, инкорпорированных в синовиальную оболочку. Рекрутирование клеток врожденного и адаптивного иммунитета из кровото-

ка в органы-мишени реализуется при участии легких фрагментов С3а и С4а как факторов, стимулирующих хемотаксис и обладающих кининовой активностью [26].

Фрагменты С3b фиксируются на поверхности мембран синовиальной оболочки, «представляя» опсонизированные клетки эффекторным [27]. В классической модели воспаления интегрированный в мембраны комплекс С5b-С9 формирует канал для тока ионов водорода, натрия и воды из внеклеточного пространства внутрь клеток-мишеней [28], однако масштаб реализации этого механизма в контексте псориатического артрита остается недостаточно изученным. При этом известно, что протеины комплекса С5b-С9, присутствующие в жидкой среде, не обладают литическим потенциалом, однако повышение их содержания коррелирует с активностью псориатического артрита, являясь косвенным признаком тканевой деструкции [27]. Очевидно, что роль системы комплемента при псориатическом артрите утратила биологически детерминированную защитную функцию. С3, С4, С5b-С9 не обладают селективным гистологическим аффинитетом [28].

Безусловно, система комплемента участвует в запуске острого воспаления в дебюте заболевания и, вероятно, обеспечивает поддержание и усиление локального процесса в периоды обострения, потенцирует механизмы, приводящие к альтерации тканей суставов. Продукция гуморальных медиаторов является предпосылкой для формирования коморбидного профиля. Высока вероятность возникновения осложнений, этиологически не связанных с псориатическим артритом. Так, повышение уровня С3 в крови на фоне псориатического артрита иллюстрирует синергичный кардиометаболический эффект, увеличивая кардиоваскулярный риск [29–31].

Роль калликреин-кининовой системы при псориатическом артрите на сегодняшний день изучена недостаточно. Представляет интерес ряд исследований, в которых была продемонстрирована связь между течением кожного псориаза и уровнем брадикинина, а также сверхэкспрессией В1- и В2-кининовых рецепторов [32, 33]. Вазоактивные амины, в частности брадикинин, регулируют диаметр и проницаемость стенок сосудов микроциркуляторного русла, стимулируют миграцию Т-лимфоцитов, нейтрофилов, усиливая воспалительный процесс. Таким образом, блокада брадикининовых рецепторов способствует снижению активности псориаза [34].

Кроме этого, брадикинин является индуктором воспалительного типа боли – ведущего клинического симптома при псориатическом артрите [35–37]. Несмотря на общность аутоиммунного процесса

при кожном псориазе и артрите, а также высокую гипотетическую вероятность сходной роли брадикининовых рецепторов и лиганда, экстраполировать полученные факты преждевременно ввиду отсутствия объективных доказательств гиперэкспрессии рецепторов в тканях суставов, сухожилиях или энтезисах. При этом исключать калликреин-кининовую систему из патогенеза псориатического артрита опрометчиво, поскольку на примере анализа состава синовиальной жидкости и крови при ревматоидном артрите, для которого также характерна воспалительная артралгия, было продемонстрировано повышение уровня калликреинов [38–40].

По данным литературы, для псориатического артрита характерно нарушение системы гемостаза с прокоагулянтным смещением равновесия. Отмечается активация фактора Хагемана, дисбаланс ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и тканевого активатора плазминогена (t-PA), снижение уровня естественных антикоагулянтов (протеинов С и S, антитромбина III), повышение содержания фибриногена и D-димера в крови [41–44].

КЛЕТОЧНЫЕ МЕДИАТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ПСОРИАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ

Липидные и белковые клеточные медиаторы являются ключевыми сигнальными молекулами в инициации аутоиммунного воспалительного процесса. Так, у пациентов с псориатическим артритом было установлено повышение плазменной концентрации липидных медиаторов (эндоканнабиноиды и некоторые эйкозаноиды), образующихся вследствие перекисного окисления липидов клеточных мембран и метаболизма арахидоновой кислоты [45, 46].

Свободный 4-гидроксинonenал (4-HNE) – «вторичный мессенджер», является реакционноспособным биомаркером перекисного окисления липидов. Эффекторный потенциал свободного 4-HNE зависит от его концентрации. Модулируя экспрессию рецепторов на мембране иммунокомпетентных клеток, 4-HNE способен нивелировать эффекты эндоканнабиноидов. 4-HNE стимулирует селекцию лимфоцитов с провоспалительным фенотипом, участвует в активации внутриклеточных ферментных систем, запускающих апоптоз поврежденных клеток [47].

Простагландин E_2 – липидный медиатор с выраженной пирогенной активностью. Данный эйкозаноид обладает кининоподобным эффектом, модулирует расширение сосудов микроциркуляторного русла, не обладая прямым аффинитетом к болевым рецепторам (ноцицепторам), косвенно приводит к гипералгезии за счет гиперсенситизации к брадикинину [48–50]. 8-Изо простагландин F_{2a} (8-isoPGF_{2a}) в кон-

тексте воспалительного процесса выполняет роль сигнальной молекулы, направленной на активацию синтеза TNF α [51].

Гепоксилин B3 (HXB3) – биоактивное вещество, усиливающее экссудацию за счет повышения проницаемости сосудистой стенки. Воздействует на рецепторы TrpV1 и TRPA1, обеспечивая возникновение связанной с воспалением боли при псориатическом артрите [52].

Эйкозаноиды, обладая сродством к рецепторам PPAR δ , подавляют антиоксидантную защиту клеток (за счет ингибирования выработки супероксиддисмутазы и гемоксигеназы), провоцируя окислительный стресс, что приводит к хронизации заболевания [46]. При обсуждении роли эйкозаноидов в возникновении и развитии псориатического артрита следует подчеркнуть, что, кроме гиперпродукции провоспалительных сигнальных молекул, существенное значение в патогенезе заболевания имеет нарушение соотношения провоспалительных и противовоспалительных липидных медиаторов. Так, отмечено снижение резольвинов – участников деактивации производных арахидоновой кислоты [45]. На фоне их дефицита блокируется обратная связь, наблюдается гиперпродукция провоспалительных цитокинов и тромбоксанов, усиливаются агрегация тромбоцитов и хемотаксис лейкоцитов, стимулируется неоангиогенез в воспаленных тканях, повышается выработка супероксид-аниона, что способствует развитию локальной резорбции околосуставной костной ткани [53].

Белковые клеточные медиаторы (цитокины) – молекулы, основной функцией которых является организация межклеточного взаимодействия [54]. В патогенезе псориатического артрита ведущая роль отводится цитокинам, стимулирующим рекрутирование иммунных клеток в ткани для инициации и поддержания воспалительного процесса. Пусковым моментом перекрестной гиперпродукции интерлейкина (IL) 1, IL-6, IL-8 при псориатическом артрите является взаимодействие растворимой формы TNF α и рецептора CD120b на клетках мезенхимального происхождения.

TNF α следует рассматривать в качестве медиатора-регулятора и медиатора-эффектора одновременно. В дебюте заболевания высокие концентрации TNF α запускают активацию внутриклеточного сигналинга, в результате чего клетки вырабатывают TNF α и «порочный круг» гиперпродукции цитокина замыкается. На молекулярно-клеточном уровне эффективная элиминация TNF α не реализуется из-за несостоятельности механизмов самоограничения его синтеза, что на организменном уровне препятствует

ремиссии заболевания и реконвалесценции. Важно отметить, что воспалительный ответ зависит от концентрации $\text{TNF}\alpha$ [55–57]. Если при псориатическом артрите наблюдается конститутивная экспрессия $\text{TNF}\alpha$, самоподдержание патологического процесса может быть реализовано за счет гиперпродукции других провоспалительных цитокинов: $\text{IL-1}\beta$ и IL-6 [58]. Другой пример перекрестной цитокиновой экспрессии – медиаторная ось IL-23/IL-17A . Выступая в качестве лиганда, IL-23 модулирует активацию Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17, синтезирующих IL-17A , а также IL-21 , IL-22 и $\text{TNF}\alpha$ [59].

Аналогично $\text{IL-1}\beta$ активизирует сигнальные пути, которые отвечают за гиперпродукцию IL-17A или IL-36 . Провоспалительный потенциал IL-36 доказан при псориазе кожи. По данным ряда исследователей, IL-36 может поддерживать воспаление при псориатическом артрите как регулятор перекрестной воспалительной экспрессии [60]. IL-17A активирует транскрипционные факторы и киназы, обеспечивает перекрестную индуцибельную секрецию IL-1 , IL-6 , $\text{TNF}\alpha$ и хемокинов, модулирует экспрессию $\text{TNF}\alpha$ -рецепторов типа 2 [61].

С одной стороны, способность цитокинов дублировать биологические функции друг друга гарантирует поддержание патологического процесса и «закрепляет» за псориатическим артритом статус хронического заболевания [54]. С другой стороны, уникальность эффекторного потенциала каждого медиатора и отсутствие строго детерминированной структуры медиаторной сети в единицу времени обуславливают индивидуальный фенотип заболевания.

$\text{TNF}\alpha$, как ранее упоминалось, реализует свой провоспалительный потенциал в зависимости от концентрации, поляризует моноцитарно-макрофагальные клетки и усиливает их миграцию, стимулирует Th1-лимфоциты и опосредовано Th17-клетки, усугубляет течение артрита, участвует в патогенезе эрозирования суставов [54].

IL-6 является цитокином с выраженным системным действием и пирогеном, стимулирует образование клетками печени белков острой фазы (СРБ, фибриногена), поляризует созревание макрофагов с формированием пула клеток с провоспалительным M1-фенотипом, активирует STAT3 -опосредованный путь передачи сигналов активации клеток воспаления [54, 65–67]. IL-23 индуцирует возникновение псориатических бляшек, тенденитов и энтезитов, но в физиологических концентрациях выполняет протективную функцию для слизистой кишечника.

IL-17A реализует свой эффекторный провоспалительный потенциал в условиях кооперации с другими цитокинами ($\text{TNF}\alpha$, IL-1 и IL-6) и является

связующим звеном между факторами врожденного и адаптивного иммунитета, способствует рекрутированию Th17-клеток, лимфоидных клеток врожденного иммунитета ILC3 и нейтрофилов, повышает прокоагулянтный потенциал крови, участвует в инициации и поддержании кожных проявлений псориаза, энтезита, тенденита [68].

IL-36a , продуцируемый В-лимфоцитами и плазматическими клетками, способствует пролиферации фибробластов синовиальной оболочки, стимулирует синтез IL-6 и IL-8 , усиливающих местное воспаление [60, 69–71].

РАССТРОЙСТВА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ПСОРИАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ: РОЛЬ ЛИПИДНЫХ И КЛЕТОЧНЫХ МЕДИАТОРОВ

Истинная воспалительная гиперемия тканей, возникающая вследствие нарушения реологических свойств крови, изменений сосудистой стенки и периваскулярных тканей, а также экссудация являются определяющими компонентами в патогенезе псориатического артрита. Активность заболевания и наличие определенного симптомокомплекса зависят от спектра сигнальных молекул, модулирующих эффекты иммунокомпетентных клеток, клеток периваскулярной области и микроциркуляторного звена.

При псориатическом артрите выраженность экссудации зависит от проницаемости венул и капилляров. К гуморальным медиаторам прямого действия на сосуды относят брадикинин и белки системы комплемента: C3a , C5a . Их эффект обусловлен способностью модулировать контракцию эндотелиоцитов [72, 73]. СРБ потенциально может оказывать влияние на проницаемость сосудистой стенки. Показано, что изоформа mСРБ обеспечивает расширение сосудов микроциркуляторного русла за счет активации локальной гиперпродукции оксида азота. Противоположным действием обладает изоформа nСРБ, провоцируя вазоконстрикцию и адгезию лейкоцитов [22]. На сегодняшний момент отсутствуют исчерпывающие представления о связи вариабельности уровня отдельных изоформ СРБ в крови и синовиальной жидкости с активностью псориатического артрита.

Клеточные медиаторы способны влиять на архитектуру микроциркуляторного русла, усиливая экссудацию посредством клеточно-опосредованного повреждения сосудистой стенки или неполноценного клеточного контакта между перитцитами и эндотелиоцитами. Для псориатического артрита характерно увеличение количества «незрелых» сосудов. Так, $\text{TNF}\alpha$ и IL-1 способны запускать перекрестную экспрессию ангиогенных факторов, например фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). В свою очередь,

IL-17 стимулирует рекрутирование эндотелиальных клеток при формировании новых сосудистых генераций [74, 75].

АНГИОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ПСОРИАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ

При псориатическом артрите дисбаланс ангиогенных медиаторов стимулируют развитие микроангиопатий, обладающих специфическими признаками. Синовиальная оболочка при этом характеризуется наличием удлинённых, кустистых и извитых капилляров, гиперваскуляризована за счёт увеличения количества функционирующих капилляров, с явлениями неангиогенеза и нарушений реологических свойств крови вследствие агрегации ее форменных элементов [76, 77]. Микроангиопатия ногтевого ложа у больных с псориатическим артритом проявляется наличием аваскулярных зон, геморрагиями, появлением гигантских капилляров, увеличением количества извитых и скрученных капилляров. Ряд исследователей отмечают уменьшение линейной плотности капилляров, тогда как другие авторы описывают увеличение плотности капилляров [78–80]. Микроангиопатия дермы возникает до появления клинических признаков псориаза кожи и характеризуется дилатацией капилляров и повышенной проницаемостью эндотелия, приводящих к экссудации и отеку [81, 82]. Важными ангиогенными факторами являются: VEGF, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), ангиопоэтин и трансформирующий фактор роста (TGF) β .

VEGF обладает регенеративным потенциалом, в том числе является ключевым в процессе неангиогенеза. При псориатическом артрите обнаруживается локальное повышение экспрессии VEGF в синовиальной оболочке сустава [83–85]. Однако диагностико-прогностическая значимость повышения концентрации VEGF в плазме крови остается при данной патологии дискуссионным вопросом.

PDGF – ростовой фактор, обеспечивающий миграцию перицитов в область сосудистых ростков [85]. Ангиопоэтин – ростовой фактор, гиперэкспрессия которого отмечена в синовиальной оболочке, при этом ведущую биологическую роль играет изоформа Ang-2. В условиях воспаления Ang-2 поступает из эндотелиоцитов в кровоток, усиливает проницаемость сосудистой стенки эндотелия, стимулирует рекрутирование эндотелиоцитов в новые тканевые ниши, способствуя неангиогенезу. Необходимо отметить, что проангиогенный потенциал ангиопоэтина реализуется при условии наличия VEGF [86, 87].

TGF β характеризуется высоким уровнем экспрессии в синовиальной оболочке, особенно у пациентов с эрозивным псориатическим артритом [88]. Известно, что TGF β способен осуществлять регуляцию состава и количества сосудистого матрикса за счет протекции и стимуляции неангиогенеза [89].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современный этап изучения псориатического артрита ознаменован ориентацией внимания исследователей на роль цитокинов, что не позволяет сформулировать общую модель патогенеза, отражающую механизмы взаимодействия гуморальных и клеточных медиаторов. Кроме этого, отсутствуют четкие представления о последовательности включения комбинаций медиаторов разного происхождения в патогенез псориатического артрита с учетом активности заболевания и клинического фенотипа. Приоритетным является вопрос определения доминирующего патологического процесса в ходе эволюции заболевания у конкретного пациента. Абсолютная реципрокность воспаления и нарушения микроциркуляции не доказана. С учетом общепринятой парадигмы, при которой тканевое воспаление является первичным событием, революционной может показаться гипотеза о том, что нарушение микроциркуляции может быть стартовым патогенетическим процессом. Очевидно то, что вклад патологии микроциркуляторного русла в развитие псориатического артрита еще недостаточно изучен и является перспективным для исследования.

Важно признать, что фрагментарное понимание патогенеза псориатического артрита формирует условия, при которых применение генно-инженерной терапии в реальной клинической практике осуществляется на основе эмпирического подхода. С учетом плейотропного потенциала большинства цитокинов такая стратегия сопоставима с применением антибиотиков без определения микробной чувствительности [90], что дискредитирует концепцию трансляционной медицины и принципы рационального персонализированного подхода, увеличивая бремя нецелевых расходов в системе здравоохранения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cigolini C., Fattorini F., Gentileschi S., Terenzi R., Carli L. Psoriatic arthritis: one year in review 2022. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2022;40(9):1611–1619. DOI: 10.55563/clinexprheumatol/x3sfxe.
2. Antony A.S., Allard A., Rambojun A., Lovell C.R., Shaddick G., Robinson G. et al. Psoriatic Nail Dystrophy Is Associated with Erosive Disease in the Distal Interphalangeal Joints in Psoriatic Arthritis: A Retrospective Cohort Study. *J. Rheumatol.* 2019;46(9):1097–1102. DOI: 10.3899/jrheum.180796.

3. Mistegård J., Gudbjornsson B., Lindqvist U., Laasonen L., Ejstrup L., Ståhle M. et al. Comorbidities in a Cohort of 66 Patients With Psoriatic Arthritis Mutilans-Results From the Nordic PAM Study. *Front. Med. (Lausanne)*. 2021;8:629741. DOI: 10.3389/fmed.2021.629741.
4. Poddubnyy D., Jadon D.R., Van den Bosch F., Mease P.J., Gladman D.D. Axial involvement in psoriatic arthritis: An update for rheumatologists. *Semin. Arthritis. Rheum.* 2021;51(4):880–887. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2021.06.006.
5. Araujo E.G., Schett G. Enthesitis in psoriatic arthritis (Part 1): pathophysiology. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(Suppl. 1):i10–i14. DOI: 10.1093/rheumatology/keaa039.
6. Girolimetto N., Giovannini I., Crepaldi G., De Marco G., Tinazzi I., Possemato N. et al. Psoriatic dactylitis: current perspectives and new insights in ultrasonography and magnetic resonance imaging. *J. Clin. Med.* 2021;10(12):2604. DOI: 10.3390/jcm10122604.
7. Sudol-Szopińska I., Pracon G. Diagnostic imaging of psoriatic arthritis. Part II: magnetic resonance imaging and ultrasonography. *J. Ultrason.* 2016;16(65):163–174. DOI: 10.15557/JoU.2016.0018.
8. De Vicente Delmás A., Sanchez-Bilbao L., Calvo-Río V., Martínez-López D., Herrero-Morant A., Galíndez-Agirregoi-koa E. et al. Uveitis in psoriatic arthritis: study of 406 patients in a single university center and literature review. *RMD Open*. 2023;9(1):e002781. DOI: 10.1136/rmdopen-2022-002781.
9. Li Y., Guo J., Cao Z., Wu J. Causal Association Between Inflammatory Bowel Disease and Psoriasis: A Two-Sample Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Front. Immunol.* 2022;13:916645. DOI: 10.3389/fimmu.2022.916645.
10. Kim W.B., Jerome D., Yeung J. Diagnosis and management of psoriasis. *Can. Fam. Physician*. 2017;63(4):278–285.
11. Taylor W., Gladman D., Helliwell P., Marchesoni A., Mease P., Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2665–2673. DOI: 10.1002/art.21972.
12. Dai L.Y., Gong D.D., Zhao J.X. Clinical characteristics of psoriatic arthritis with positive rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody. *Beijing Da Xue Bao Yi Xue Ban*. 2019;51(6):1008–1013. DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2019.06.005.
13. Gialouri C.G., Fragoulis G.E. Disease activity indices in psoriatic arthritis: current and evolving concepts. *Clin. Rheumatol.* 2021;40(11):4427–4435. DOI: 10.1007/s10067-021-05774-9.
14. Roe K. An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scand. J. Immunol.* 2021;93(2):e12970. DOI: 10.1111/sji.12970.
15. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., Зотова Н.В. Фундаментально-прикладные аспекты системного воспаления с точки зрения физиологического и типичного патологического процесса. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова*. 2010;96(7):696–707.
16. Gialouri C.G., Evangelatos G., Pappa M., Karamanakos A., Iliopoulos A., Tektonidou M.G. et al. Normal C-reactive protein in active psoriatic arthritis: results from real-world clinical practice. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* 2022;14:1–8. DOI: 10.1177/1759720X221122417.
17. Singh S.K., Ngwa D.N., Agrawal A. Complement activation by c-reactive protein is critical for protection of mice against pneumococcal infection. *Front. Immunol.* 2020;11:1812. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01812.
18. Chirco K.R., Potempa L.A. C-reactive protein as a mediator of complement activation and inflammatory signaling in age-related macular degeneration. *Front. Immunol.* 2018;9:539. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00539.
19. Ryu J., Lee C.W., Shin J.A., Park C.S., Kim J.J., Park S.J. et al. FcγRIIIa mediates C-reactive protein-induced inflammatory responses of human vascular smooth muscle cells by activating NADPH oxidase 4. *Cardiovasc. Res.* 2007;75(3):555–565. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.04.027.
20. Wu Y., Potempa L.A., El Kebir D., Filep J.G. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol. Chem.* 2015;396(11):1181–1197. DOI: 10.1515/hsz-2015-0149.
21. Ji S.R., Wu Y., Zhu L., Potempa L.A., Sheng F.L., Lu W. et al. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein (CRP) to form a new, biologically active structural intermediate: mCRP(m). *FASEB J.* 2007;21(1):284–294. DOI: 10.1096/fj.06-6722com.
22. Sproston N.R., Ashworth J.J. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front. Immunol.* 2018;9:754. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00754.
23. Kim K.W., Kim B.M., Moon H.W., Lee S.H., Kim H.R. Role of C-reactive protein in osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis. Ther.* 2015;17(1):41. DOI: 10.1186/s13075-015-0563-z.
24. Gershov D., Kim S., Brot N., Elkon K.B. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an anti-inflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.* 2000;192(9):1353–1364. DOI: 10.1084/jem.192.9.1353.
25. Chimenti M.S., Perricone C., Graceffa D., Di Muzio G., Balanti E., Guarino M.D. et al. Complement system in psoriatic arthritis: a useful marker in response prediction and monitoring of anti-TNF treatment. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2012;30(1):23–30.
26. Coss S.L., Zhou D., Chua G.T., Aziz R.A., Hoffman R.P., Wu Y.L. et al. The complement system and human autoimmune diseases. *J. Autoimmun.* 2023;137:102979. DOI: 10.1016/j.jaut.2022.102979.
27. Cavalli S., Lonati P.A., Gerosa M., Caporali R., Cimaz R., Chighizola C.B. Beyond systemic lupus erythematosus and anti-phospholipid syndrome: the relevance of complement from pathogenesis to pregnancy outcome in other systemic rheumatologic diseases. *Front. Pharmacol.* 2022;13:841785. DOI: 10.3389/fphar.2022.841785.
28. Pouw R.B., Ricklin D. Tipping the balance: intricate roles of the complement system in disease and therapy. *Semin. Immunopathol.* 2021;43(6):757–771. DOI: 10.1007/s00281-021-00892-7.
29. Nurmohamed M.T., Heslinga M., Kitas G.D. Cardiovascular comorbidity in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2015;11(12):693–704. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.112.
30. Engström G., Hedblad B., Janzon L., Lindgärde F. Complement C3 and C4 in plasma and incidence of myocardial

- infarction and stroke: a population-based cohort study. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2007;14(3):392–397. DOI: 10.1097/01.hjr.0000244582.30421.b2.
31. Arias de la Rosa I., Font P., Escudero-Contreras A., López-Montilla M.D., Pérez-Sánchez C., Ábalos-Aguilera MC. et al. Complement component 3 as biomarker of disease activity and cardiometabolic risk factor in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis. *Ther. Adv. Chronic. Dis.* 2020;11:1–12. DOI: 10.1177/2040622320965067.
 32. Soley B.S., Silva L.M., Mendes D.A.G.B., Báfica A., Pesquero J.B., Bader M. et al. B1 and B2 kinin receptor blockade improves psoriasis-like disease. *Br. J. Pharmacol.* 2020;177(15):3535–3551. DOI: 10.1111/bph.15077.
 33. Golias Ch., Charalabopoulos A., Stagikas D., Charalabopoulos K., Batistatou A. The kinin system-bradykinin: biological effects and clinical implications. Multiple role of the kinin system-bradykinin. *Hippokratia.* 2007;11(3):124–128.
 34. Costa-Neto C.M., Dillenburg-Pilla P., Heinrich T.A., Parreiras-e-Silva L.T., Pereira M.G., Reis R.I. et al. Participation of kallikrein-kinin system in different pathologies. *Int. Immunopharmacol.* 2008;8(2):135–142. DOI: 10.1016/j.intimp.2007.08.003.
 35. Choi S.I., Hwang S.W. Depolarizing effectors of bradykinin signaling in nociceptor excitation in pain perception. *Biomol. Ther. (Seoul).* 2018;26(3):255–267. DOI: 10.4062/biomolther.2017.127.
 36. Ramjeeawon A., Choy E. Neuropathic-like pain in psoriatic arthritis: evidence of abnormal pain processing. *Clin. Rheumatol.* 2019;38(11):3153–3159. DOI: 10.1007/s10067-019-04656-5.
 37. Grinnell-Merrick L.L., Lydon E.J., Mixon A.M., Saalfeld W. Evaluating Inflammatory Versus Mechanical Back Pain in Individuals with Psoriatic Arthritis: A Review of the Literature. *Rheumatol. Ther.* 2020;7(4):667–684. DOI: 10.1007/s40744-020-00234-3.
 38. Cassim B., Shaw O.M., Mazur M., Misso N.L., Naran A., Langlands D.R. et al. Kallikreins, kininogens and kinin receptors on circulating and synovial fluid neutrophils: role in kinin generation in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(5):490–496. DOI: 10.1093/rheumatology/kep016.
 39. Tan D.B.A., Tedja C., Kuster L., Raymond W.D., Harsanyi A., Chowalloor P.V. et al. The relationship between clinical phenotype and kallikrein-kinin bioregulation in different forms of arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2023;24(1):396. DOI: 10.1186/s12891-023-06388-9.
 40. Tsou P.S., Lu C., Gurrea-Rubio M., Muraoka S., Campbell P.L., Wu Q. et al. Soluble CD13 induces inflammatory arthritis by activating the bradykinin receptor B1. *J. Clin. Invest.* 2022;132(11):e151827. DOI: 10.1172/JCI151827.
 41. Di Minno M.N., Iervolino S., Peluso R., Di Minno A., Ambrosino P., Scarpa R. Hemostatic and fibrinolytic changes are related to inflammatory conditions in patients with psoriatic arthritis-effect of different treatments. *J. Rheumatol.* 2014;41(4):714–722. DOI: 10.3899/jrheum.130850.
 42. Visser M.J.E., Venter C., Roberts T.J., Tarr G., Pretorius E. Psoriatic disease is associated with systemic inflammation, endothelial activation, and altered haemostatic function. *Sci. Rep.* 2021;11(1):13043. DOI: 10.1038/s41598-021-90684-8.
 43. Ogdie A., Kay McGill N., Shin D.B., Takeshita J., Jon Love T., Noe M.H. et al. Risk of venous thromboembolism in patients with psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a general population-based cohort study. *Eur. Heart J.* 2018;39(39):3608–3614. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx145.
 44. Nohawica M., Nowak-Terpilowska A., Adamska K., Wyganowska-Swiatkowska M. Simulated *in vitro* hypoxic conditions from psoriatic arthritis cartilage change plasminogen activating system urokinase and serpine functionality. *Adv. Dermatol. Alergol.* 2022;39(5):944–952. DOI: 10.5114/ada.2022.113405.
 45. Coras R., Kavanaugh A., Boyd T., Huynh Q., Pedersen B., Armando A.M. et al. Pro- and anti-inflammatory eicosanoids in psoriatic arthritis. *Metabolomics.* 2019;15(4):65. DOI: 10.1007/s11306-019-1527-0.
 46. Wójcik P., Biernacki M., Wroński A., Łuczaj W., Waeg G., Žarković N. et al. Altered lipid metabolism in blood mononuclear cells of psoriatic patients indicates differential changes in psoriasis vulgaris and psoriatic arthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(17):4249. DOI: 10.3390/ijms20174249.
 47. Łuczaj W., Gęgotek A., Skrzydlewska E. Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radic. Biol. Med.* 2017;111:87–101. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.033.
 48. Cheng H., Huang H., Guo Z., Chang Y., Li Z. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics.* 2021;11(18):8836–8854. DOI: 10.7150/thno.63396.
 49. Samuels J.S., Holland L., López M., Meyers K., Cumbie W.G., McClain A. et al. Prostaglandin E2 and IL-23 interconnects STAT3 and RoRγ pathways to initiate Th17 CD4⁺ T-cell development during rheumatoid arthritis. *Inflamm. Res.* 2018;67(7):589–596. DOI: 10.1007/s00011-018-1153-8.
 50. Diao G., Huang J., Zheng X., Sun X., Tian M., Han J. et al. Prostaglandin E2 serves a dual role in regulating the migration of dendritic cells. *Int. J. Mol. Med.* 2021;47(1):207–218. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4801.
 51. Timmermann M., Högger P. Oxidative stress and 8-iso-prostaglandin F(2α) induce ectodomain shedding of CD163 and release of tumor necrosis factor-α from human monocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 2005;39(1):98–107. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.031.
 52. Antón R., Camacho M., Puig L., Vila L. Hepoxilin B3 and its enzymatically formed derivative trioxilin B3 are incorporated into phospholipids in psoriatic lesions. *J. Invest. Dermatol.* 2002;118(1):139–146. DOI: 10.1046/j.0022-202x.2001.01593.x.
 53. Arnardottir H.H., Dalli J., Norling L.V., Colas R.A., Perretti M., Serhan C.N. Resolvin D3 Is Dysregulated in Arthritis and Reduces Arthritic Inflammation. *J. Immunol.* 2016;197(6):2362–2368. DOI: 10.4049/jimmunol.1502268.
 54. Rea I.M., Gibson D.S., McGilligan V., McNerlan S.E., Alexander H.D., Ross O.A. Age and age-related diseases: role of inflammation triggers and cytokines. *Front. Immunol.* 2018;9:586. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00586.
 55. Faustman D.L., Davis M. TNF Receptor 2 and disease: autoimmunity and regenerative medicine. *Front. Immunol.* 2013;4:478. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00478.
 56. Fitzgerald O., Winchester R. Psoriatic arthritis: from pathogenesis to therapy. *Arthritis. Res. Ther.* 2009;11(1):214. DOI: 10.1186/ar2580.

57. Merola J.F., Espinoza L.R., Fleischmann R. Distinguishing rheumatoid arthritis from psoriatic arthritis. *RMD Open*. 2018;4(2):e000656. DOI: 10.1136/rmdopen-2018-000656.
58. Lee B.W., Moon S.J. Inflammatory cytokines in psoriatic arthritis: understanding pathogenesis and implications for treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(14):11662. DOI: 10.3390/ijms241411662.
59. Fragoulis G.E., Siebert S. The role of IL-23 and the use of IL-23 inhibitors in psoriatic arthritis. *Musculoskeletal Care*. 2022;20(Suppl. 1):S12–S21. DOI: 10.1002/msc.1694.
60. Iznardo H., Puig L. Exploring the role of IL-36 cytokines as a new target in psoriatic disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(9):4344. DOI: 10.3390/ijms22094344.
61. Blauvelt A., Chiricozzi A. The immunologic role of IL-17 in psoriasis and psoriatic arthritis pathogenesis. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* 2018;55(3):379–390. DOI: 10.1007/s12016-018-8702-3.
62. Aggarwal B.B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.* 2003;3(9):745–756. DOI: 10.1038/nri1184.
63. Bodmer J.L., Schneider P., Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem. Sci.* 2002;27(1):19–26. DOI: 10.1016/S0968-0004(01)01995-8.
64. Brenner D., Blaser H., Mak T.W. Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nat. Rev. Immunol.* 2015;15(6):362–374. DOI: 10.1038/nri3834.
65. Boras E., Slevin M., Alexander M.Y., Aljohi A., Gilmore W., Ashworth J. et al. Monomeric C-reactive protein and Notch-3 co-operatively increase angiogenesis through PI3K signaling pathway. *Cytokine*. 2014;69(2):165–179. DOI: 10.1016/j.cyt.2014.05.027.
66. Narazaki, M. The two-faced cytokine IL-6 in host defense and diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(11):3528. DOI: 10.3390/ijms19113528.
67. Rose-John S. Interleukin-6 family cytokines. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol.* 2018;10(2):a028415. DOI: 10.1101/cshperspect.a028415.
68. Blauvelt A., Chiricozzi A. The immunologic role of IL-17 in psoriasis and psoriatic arthritis pathogenesis. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* 2018;55(3):379–390. DOI: 10.1007/s12016-018-8702-3.
69. Boutet M.A., Nerviani A., Pitzalis C. IL-36, IL-37, and IL-38 Cytokines in Skin and Joint Inflammation: A Comprehensive Review of Their Therapeutic Potential. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(6):1257. DOI: 10.3390/ijms20061257.
70. Bettiol A., Fagni F., Mattioli I., Bagni G., Vitiello G., Grassi A. et al. Serum interleukin-36 α as a candidate biomarker to distinguish behçet's syndrome and psoriatic arthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(10):8817. DOI: 10.3390/ijms24108817.
71. Wang C., Hu J., Shi J. Role of interleukin-36 in inflammatory joint diseases. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2023;52(2):249–259. DOI: 10.3724/zdxbyxb-2023-0034.
72. Kaplan A.P., Joseph K. Pathogenic mechanisms of bradykinin mediated diseases: dysregulation of an innate inflammatory pathway. *Adv. Immunol.* 2014;121:41–89. DOI: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00002-7.
73. Oncul S., Afshar-Kharghan V. The interaction between the complement system and hemostatic factors. *Curr. Opin. Hematol.* 2020;27(5):341–352. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000605.
74. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997;386(6626):671–674. DOI: 10.1038/386671a0.
75. Cantatore F.P., Maruotti N., Corrado A., Ribatti D. Angiogenesis dysregulation in psoriatic arthritis: molecular mechanisms. *Biomed. Res. Int.* 2017;2017:5312813. DOI: 10.1155/2017/5312813.
76. Espinoza L.R., Vasey F.B., Espinoza C.G., Bocanegra T.S., Germain B.F. Vascular changes in psoriatic synovium. A light and electron microscopic study. *Arthritis Rheum.* 1982;25(6):677–684. DOI: 10.1002/art.1780250611.
77. Tenazinha C., Barros R., Fonseca J.E., Vieira-Sousa E. Histopathology of Psoriatic Arthritis Synovium-A Narrative Review. *Front. Med (Lausanne)*. 2022;9:860813. DOI: 10.3389/fmed.2022.860813.
78. Lazar L.T., Guldborg-Møller J., Lazar B.T., Mogensen M. Nailfold capillaroscopy as diagnostic test in patients with psoriasis and psoriatic arthritis: A systematic review. *Microvasc. Res.* 2023;147:104476. DOI: 10.1016/j.mvr.2023.104476.
79. Anghel D., Sirbu C.A., Petrache O.G., Oprea-Belinski D., Negru M.M., Bojincă V.C. et al. Nailfold videocapillaroscopy in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthropathy on ANTI-TNF-ALPHA therapy. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(12):2079. DOI: 10.3390/diagnostics13122079.
80. Guldborg-Møller J., Henriksen M., Ellegaard K., Haedersdal M., Lazar L.T., Kristensen L.E. et al. Novel application of optical coherence tomography and capillaroscopy in psoriatic arthritis in relationship to psoriasis and hand osteoarthritis. *Rheumatol. Adv. Pract.* 2021;5(3):rkab065. DOI: 10.1093/rap/rkab065.
81. Sivasankari M., Arora S., Vasdev V., Mary E.M. Nailfold capillaroscopy in psoriasis. *Med. J. Armed. Forces India*. 2021;77(1):75–81. DOI: 10.1016/j.mjafi.2020.01.013.
82. Li W., Man X.Y., Chen J.Q., Zhou J., Cai S.Q., Zheng M. Targeting VEGF/VEGFR in the treatment of psoriasis. *Discov. Med.* 2014;18(98):97–104.
83. Fearon U., Reece R., Smith J., Emery P., Veale D.J. Synovial cytokine and growth factor regulation of MMPs/TIMPs: implications for erosions and angiogenesis in early rheumatoid and psoriatic arthritis patients. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999;878:619–621. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb07743.
84. Yamamoto T. Angiogenic and inflammatory properties of psoriatic arthritis. *ISRN Dermatology*. 2013;2013:2017. DOI: 10.1155/2013/630620.630620.
85. Ballara S.C., Miotla J.M., Paleolog E.M. New vessels, new approaches: angiogenesis as a therapeutic target in musculoskeletal disorders. *Int. J. Exp. Pathol.* 1999;80(5):235–250. DOI: 10.1046/j.1365-2613.1999.00129.x.
86. Parikh S.M. The angiopoietin-tie2 signaling axis in systemic inflammation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017;28(7):1973–1982. DOI: 10.1681/ASN.2017010069.
87. Moss A. The angiopoietin:Tie 2 interaction: a potential target for future therapies in human vascular disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(6):579–592. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2013.05.009.
88. Pinto Tasende J.A., Fernandez-Moreno M., Vazquez-Mosquera M.E., Fernandez-Lopez J.C., Oreiro-Villar N., De Toro Santos F.J. et al. Increased synovial immunohistochemistry

reactivity of TGF- β 1 in erosive peripheral psoriatic arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2023;24(1):246. DOI: 10.1186/s12891-023-06339-4.

89. Wang J., Xiang H., Lu Y., Wu T. Role and clinical significance

of TGF β 1 and TGF β R1 in malignant tumors (Review). *Int. J. Mol. Med.* 2021;47(4):55. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4888.

90. Walger P. Rational use of antibiotics. *Internist. (Berl.)*. 2016;57(6):551–568. DOI: 10.1007/s00108-016-0071-5.

Информация об авторах

Погонченкова Дарья Александровна – канд. мед. наук, зав. ревматологическим отделением, МЦ «Профессор», СибГМУ, г. Томск, pogonchenkova.da@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5903-3662>

Четверня Лада Вячеславовна – врач-ревматолог, МЦ «Профессор», СибГМУ, г. Томск, chetvernaya.lv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0009-0003-0436-5349>

Васильева Ольга Александровна – канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ г. Томск, vasilyeva.oi@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2882-4533>;

Кононова Татьяна Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, kononova.te@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8457-9440>

Полетика Вадим Сергеевич – канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, vpoletika@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2005-305X>

Абрамов Виталий Константинович – лаборант-исследователь, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, abramoff.vk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7991-9786>;

Чумакова Светлана Петровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, chumakova.sp@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Елисеева Лариса Васильевна – канд. мед. наук, зав. ревматологическим отделением, ассистент кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, eliseeva.lv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9089-3321>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, urazova.oi@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

(✉) **Погонченкова Дарья Александровна**, pogonchenkova.da@ssmu.ru

Поступила в редакцию 02.05.2024;
одобрена после рецензирования 15.05.2024;
принята к публикации 13.06.2024

УДК 616.248-053.2-02:579.61
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-197-204>

Значение биоразнообразия микробиоты человека и окружающей среды в подверженности развитию бронхиальной астмы у детей

Соколова Т.С., Мальчук В.Н., Ногай А.А., Федорова О.С., Огородова Л.М.

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

РЕЗЮМЕ

Бронхиальная астма (БА) остается одним из наиболее распространенных хронических заболеваний дыхательных путей в детском возрасте. Развитие БА реализуется при сочетании генетической предрасположенности и воздействия факторов внешней среды. Эпидемиологические данные, касающиеся развития БА, подчеркивают важность воздействия микробиоты в раннем возрасте в формировании иммунных реакций и подверженности развитию БА. В последние годы накоплено достаточно данных, позволяющих предположить, что дисбаланс микробиоты кишечника и дыхательных путей в раннем возрасте может predispose ребенка к развитию астмы. В свою очередь, биоразнообразие окружающей среды оказывает влияние на колонизацию микроорганизмами различных биотопов организма человека. Исследование механизмов взаимодействия микробиотических сообществ окружающей среды и человека откроет перспективу для разработки новых стратегий профилактики астмы.

Цель настоящего обзора – провести анализ современных исследований, направленных на оценку значения биоразнообразия микробиоты человека и окружающей среды в подверженности развитию бронхиальной астмы у детей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, кишечная микробиота, микробиота дыхательных путей, микробиота окружающей среды

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант «Микробиота в системе “паразит – хозяин” и ее метаболический потенциал как инструмент управления бронхиальной астмой»; договор от 01.08.22, № 22-75-00078).

Для цитирования: Соколова Т.С., Мальчук В.Н., Ногай А.А., Федорова О.С., Огородова Л.М. Значение биоразнообразия микробиоты человека и окружающей среды в подверженности развитию бронхиальной астмы у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):197–204. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-197-204>.

The importance of biodiversity of human microbiota and environment in the susceptibility to the development of bronchial asthma in children

Sokolova T.S., Malchuk V.N., Nogai A.A., Fedorova O.S., Ogorodova L.M.

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

✉ Соколова Татьяна Сергеевна, sokolova.ts@ssmu.ru

ABSTRACT

Bronchial asthma (BA) remains one of the most common chronic respiratory diseases in childhood. BA develops with a combination of genetic predisposition and environmental factors. Epidemiological data on the development of BA emphasize the role of early-life microbiota in the formation of immune responses and susceptibility to the development of BA. In recent years, enough data has been accumulated to suggest that an imbalance in intestinal and airway microbiota during early life may predispose a child to the development of BA. In turn, the biodiversity of the environment influences the colonization of various biotopes in the human body by microorganisms. The study of the mechanisms of interaction between microbiota communities of the environment and humans will pave the way for the development of new strategies for the prevention of BA.

The aim of this review was to analyze current research aimed at assessing the importance of biodiversity of human microbiota and environment in the susceptibility to the development of BA in children.

Keywords: bronchial asthma, children, intestinal microbiota, airway microbiota, environmental microbiota

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

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation grant (“The role of microbiota in parasite–host interactions and its metabolic potential as a tool for bronchial asthma control”, agreement dated 01.08.22, No. 22-75-00078).

For citation: Sokolova T.S., Malchuk V. N., Nogai A.A., Fedorova O.S., Ogorodova L.M. The importance of biodiversity of human microbiota and environment in the susceptibility to the development of bronchial asthma in children. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):197–204. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-197-204>.

ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) остается одним из наиболее распространенных хронических заболеваний дыхательных путей, поражающим до 10% детского и подросткового населения [1]. Развитие БА реализуется при сочетании генетической предрасположенности к атопии и бронхиальной гиперреактивности и воздействия факторов внешней среды [1]. Последние данные свидетельствуют о возможной связи между высокой распространенностью данной патологии и снижением воздействия микробов в результате изменения диетических привычек, характеризующихся снижением потребления пищевых волокон и повышенным потреблением жиров, улучшения гигиенических условий, нерационального использования антибактериальных препаратов и других факторов [2, 3]. На настоящий момент появляется все больше информации об изменении состава микробиоты человека при различных заболеваниях и его роли в патогенезе различных расстройств, в том числе при БА [4]. Эпидемиологические и экспериментальные данные, направленные на изучение факторов риска развития БА, демонстрируют важность воздействия микробиотических факторов в раннем возрасте в формировании иммунных реакций [5–7].

Согласно данным современных исследований, существует несколько гипотез, которые объясняют связь между распространенностью аллергических бо-

лезней и изменениями окружающей среды (урбанизация, улучшение жилищных условий, модификация питания), произошедшими в последние десятилетия и снижением биоразнообразия окружающей среды [3, 8, 9]. Эпидемиологические исследования показывают, что снижение воздействия бактерий окружающей среды в раннем возрасте (например, рождение путем кесарева сечения, искусственное вскармливание, проживание ребенка в городской среде, в малочисленных семьях и при ограниченном количестве контактов с различными животными) связано с повышенным риском развития аллергии и БА в дальнейшей жизни [3, 8–10]. И наоборот, снижение риска развития БА неизменно наблюдается у детей, проживающих в сельской местности, а также в многодетных семьях со старшими детьми, что, вероятно, связано с подверженностью организма ребенка воздействию широкого спектра микроорганизмов и их метаболитов [11].

В экспериментальных и клинических исследованиях, направленных на изучение особенностей микробиоты при БА, охарактеризована микробиота кишечника и респираторного тракта. На формирование микробиоты влияет множество как внутренних, так и внешних факторов. Одним из ярких примеров воздействия окружающей среды, влияющих на развитие астмы, является «эффект фермы» [12]. Многие эпидемиологические исследования показали, что проживание на ферме в раннем возрасте связано со снижением риска развития астмы у детей [12–15].

Цель настоящего обзора – провести анализ современных исследований, направленных на оценку значения биоразнообразия микробиоты человека и окружающей среды в подверженности развитию бронхиальной астмы у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ научных публикаций результатов клинических исследований, направленных на оценку биоразнообразия микробиоты дыхательных путей, кишечника и окружающей среды в развитии бронхиальной астмы у детей.

Поиск проведен с использованием электронно-поисковой системы PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) и научной электронной библиотеки ELIBRARY (<https://www.elibrary.ru/>). В обзоре представлены оригинальные статьи, опубликованные с 1 апреля 2014 г. по 1 апреля 2024 г.

Выполнен первичный поиск публикаций, посвященных исследованию микробиоты кишечника и (или) дыхательных путей и (или) окружающей среды при БА у детей от рождения до 18 лет. Для поиска использовали ключевые слова: *asthma microbiota gut or microbiota airway or microbiota environment or microbiota household* астма, дети, микробиота кишечника, микробиота дыхательных путей, микробиота окружающей среды. Изучены рефераты 7 708 статей, выбранных при первоначальном поиске.

Затем были проанализированы рефераты 907 публикаций, исключены обзоры, исследования случай–контроль, работы, не содержащие данные о микробиоте кишечника, и (или) дыхательных путей, и (или) окружающей среды при БА у детей.

Для подготовки обзора в анализ включены 19 публикаций, соответствующих критериям включения: исследование микробиоты кишечника, и (или) дыхательных путей и (или) окружающей среды (микробиота образцов пыли домашних помещений) методом секвенирования у детей, не имеющих симптомов БА на момент включения в исследование, с последующей оценкой ассоциации с развитием БА, полнота описания схемы исследования.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

В настоящее время известно, что слизистая оболочка дыхательных путей у здоровых индивидов колонизирована специфическими для данного биотопа бактериальными сообществами [16]. В исследованиях показано, что состав микробиоты дыхательных путей различается у здоровых детей и больных БА, а

также установлены различия в микробиоте при различных фенотипах БА [17].

Многочисленные исследования демонстрируют, что определяющее влияние на развитие БА в старшем возрасте оказывает изменение микробиоты в раннем детском возрасте [18–23]. Однако результаты исследований противоречивы из-за различий техники забора исследуемых биообразцов, методах и временных точках, что определяет сложность обобщения результатов. В результате анализа публикаций отобраны шесть проспективных исследований, в которых проведен анализ ассоциации микробиоты дыхательных путей у младенцев с развитием БА в старшем возрасте [18–23]. В большинстве исследований для изучения микробиоты использовали образцы, взятые из назофарингеальной области, а в двух исследованиях указано об аспиратах дыхательных путей в качестве исследуемых биообразцов [18, 19]. В трех исследованиях сообщалось об оценке альфа и бета-разнообразия микробиоты [18, 20, 21].

При этом только в одном исследовании выявлена ассоциация с развитием БА более высокого индекса альфа-разнообразия и различия бета-разнообразия в сравнении с детьми, у которых отсутствовали симптомы БА в возрасте 6 лет [18]. При этом отмечена корреляция бактериального состава, ассоциированного с развитием БА, иммунным профилем дыхательных путей, характеризующихся снижением уровней TNF α и IL-1 β и повышением CCL2 и CCL17 [18].

В двух исследованиях показано, что более высокое относительное содержание *Streptococcus* в микробиоте назального секрета младенцев связано с развитием БА [22, 23]. В другом исследовании показано, что обилие бактерий рода *Staphylococcus* в носоглотке в первые 6 мес жизни связано с рецидивирующими хрипами в первые 3 года жизни и развитием в более старшем возрасте БА [19]. Также в двух исследованиях продемонстрирована ассоциация *Haemophilus* с риском развития БА [19, 21]. В нескольких исследованиях отмечено изменение представленности рода *Moraxella*, однако данные противоречивы [19, 21]. В когортном проспективном исследовании также подтвердили ассоциацию *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* с развитием БА [20].

Следует отметить, что у детей, страдающих БА, в образцах микробиоты нижних дыхательных путей (анализ мокроты и конденсата выдыхаемого воздуха) отмечено увеличение представленности бактерий рода *Moraxella* и *Streptococcus* [24, 25].

ЗНАЧЕНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Микробиота кишечника является одним из важнейших факторов, определяющих состояние здоровья человека, и в настоящее время рассматривается как система, ответственная за поддержание метаболического и иммунологического гомеостаза организма [26]. Кишечная микробиота и ее метаболиты играют важную роль в развитии местных и системных иммунных реакций [27]. Изменения в микробном составе кишечника могут оказывать заметное влияние на респираторные заболевания, такие как БА, путем формирования микробных сообществ и модуляции метаболического и иммунного ответа, так называемая концепция ось кишечник – легкие [4, 28].

На развитие микробиома кишечника в раннем возрасте влияют многие факторы окружающей среды, такие как проживание в среде, богатой микробами (например, на ферме или при частых контактах с домашним скотом и домашними животными), или разнообразное питание, превентивное значение которых в отношении формирования БА в детском возрасте показано в исследованиях [29, 30]. Считается, что воздействие и колонизация определенными микробами в раннем возрасте важны для развития кишечника, созревания иммунных клеток и устойчивости к патогенам [31].

Предполагается, что таксономическое богатство кишечной микробиоты определяет ее устойчивость к различным воздействиям, в том числе колонизации патогенами, при этом низкое разнообразие бактериальных сообществ ассоциировано с патологическими состояниями [32]. В исследованиях, включенных в обзор, отмечено снижение альфа-разнообразия в образцах стула младенцев, у которых в будущем развилась БА, в сравнении со здоровыми детьми [32, 33].

В проспективном исследовании G. Galazzo и соавт. показали, что представленность бактерий родов *Lachnobacterium*, *Lachnospira* и *Dialister* была значимо снижена в микробиоме кишечника младенцев, у которых развилась БА к школьному возрасту, по сравнению со здоровыми детьми [34]. Анализ таксономического состава микробиоты показал, что высокий риск развития БА связан с низкой представленностью таких родов, как *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Alistipes*, *Ruminococcus* и *Dialister*, и более высоким содержанием *Veillonella* [35, 36]. Похожие результаты получили ученые из США: обилие *Veillonella* в кишечнике было связано

с эпизодами свистящих хрипов, однако связи между хрипами и бета-разнообразием не получено [37].

В когортном исследовании, проведенном в Канаде с участием более 300 детей, риск развития БА ассоциирован со снижением относительной численности бактерий рода *Veillonella* [38]. В другом исследовании также показана ассоциация низкой представленности родов *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* и *Akkermansia* с высоким риском развития БА [39]. В нескольких исследованиях, посвященных изучению микробиома кишечника у младенцев и его связи с развитием БА, описана связь между снижением относительной численности родов *Roseburia*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* и *Lachnospira* с повышенным риском развития данной патологии [12, 33–35].

Несмотря на многогранность и неоднородность проведенных исследований, в совокупности эти данные подтверждают значение состава кишечной микробиоты в раннем возрасте с подверженностью развитию БА у детей.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Становление микробиоты разных биотопов происходит преимущественно на протяжении первого года жизни ребенка и продолжает формироваться до достижения совершеннолетия. Влияние на колонизацию микроорганизмами в раннем возрасте оказывают такие факторы, как способ родоразрешения и вид вскармливания [22, 38]. В исследованиях показано, что способ родов (естественные роды или с помощью кесарева сечения) и окружающая среда в первом полугодии жизни имеют определяющее значение для формирования стабильной микробиоты органов дыхания и кишечника, что определяет состояние здоровья в старшем возрасте [22, 38].

По данным метаанализа показано, что у детей, рожденных путем кесарева сечения, выше риск развития БА и аллергического ринита по сравнению с детьми, рожденными естественным путем [40]. Однако в другом исследовании отмечено, что микробиота младенцев определяется в большей степени материнскими факторами и не зависит от способа родов [41]. Вероятно, риск развития аллергических болезней также связан с влиянием состояний, определяющих способ родоразрешения в пользу кесарева сечения. В эпидемиологических исследованиях показано, что контакты со старшими братьями и сестрами или посещение детских дошкольных учреждений в первые два года жизни оказывают про-

тективный эффект в отношении развития аллергии, что связано с увеличением таксономического разнообразия микробиоты [11, 42].

Также отмечено, что дети, проживающие на фермах, менее подвержены аллергическим заболеваниям [2, 13, 14, 43, 44]. Результаты когортного исследования в Дании показали, что повышенный риск развития БА регистрировался у подростков, проживавших в раннем возрасте в домах с плесенью и влажностью. Напротив, подростки, проживавшие в фермерских домах и контактировавшие с домашними животными, реже страдали БА к 18 годам [45].

Предполагается, что перечисленные факторы оказывают влияние на развитие иммунной системы в детском возрасте путем формирования таксономически богатой микробиоты различных биотопов [14, 32]. В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что вдыхаемые частицы пыли могут переносить сложную смесь микробов и их метаболитов, которые влияют на восприимчивость к развитию БА посредством их воздействия на иммунные реакции в дыхательных путях [14, 46]. Также в исследовании продемонстрирована связь грибковых и бактериальных сообществ домашних помещений и микробиоты дыхательных путей в раннем возрасте [47]. Однако исследований, направленных на изучение состава микробиоты окружающей среды и его ассоциации с развитием БА, недостаточно. В результате проведенного обзора публикаций за последние 10 лет выявлено шесть исследований по оценке микробиоты помещений с использованием молекулярно-генетических методов и ее связи с развитием БА [14, 43, 48–51].

В когортном проспективном исследовании показано, что микроорганизмы, связанные с сельской средой, в образцах пыли кроваток младенцев ассоциированы с более низким риском развития БА и аллергического ринита в возрасте 6 лет [48]. Низкое бактериальное разнообразие было обнаружено в микробиоте, собранной из образцов пыли кроватей детей, у которых в будущем развилась БА [48]. В другом исследовании показаны различия бета-разнообразия, увеличение представленности *Lactococcus*, *Streptococcus* и снижение содержания *Sphingomonas* в образцах домашней пыли в домах пациентов с БА в сравнении с помещениями участников без БА [49]. Среди городских детей высокого риска более высокий уровень аллергенов в помещении в младенчестве был связан с более низким риском развития астмы в возрасте 7 лет [50]. Кроме того, исследования окружающей среды на фермах и риска астмы показали, что численность *Streptococcaceae* в микробио-

те пыли выше в несельскохозяйственных домах, что связано с риском астмы [43].

Однако исследования микробиоты пыли в домах пациентов с диагностированной БА демонстрируют, напротив, ассоциацию высокого биоразнообразия микроорганизмов с неконтролируемым течением БА. Так, исследование, проведенное в США, сообщило о положительной связи между бактериальным изобилием в домашних условиях и тяжестью астмы у детей [52].

Разнообразный состав микробиоты в помещениях оказывает влияние на колонизацию микроорганизмами кишечника и дыхательных путей, способствуя развитию иммунологической толерантности [13, 53]. Воздействие микробиотических сообществ окружающей среды в раннем возрасте связано с риском развития астмы у детей, и эти результаты могут послужить ориентирами для разработки стратегий профилактики астмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ современных исследований демонстрирует важную роль разнообразия и состава микробиоты человека и окружающей среды в развитии БА у детей. Обобщение результатов исследований позволяет сделать вывод, что период от рождения до первого года жизни является оптимальным временным окном для эпигенетических изменений, связанных с воздействием окружающей среды и подверженностью БА. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение патогенетических механизмов взаимодействия микробиотических сообществ и иммунной системой человека, что откроет перспективу для разработки новых технологий по управлению бронхиальной астмой.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Reddel H.K., Bacharier L.B., Bateman E.D., Brightling C.E., Brusselle G.G., Buhl R. et al. Global initiative for asthma strategy 2021: executive summary and rationale for key changes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2022;205(1):17–35. DOI: 10.1164/rccm.202109-2205PP.
2. Haahtela T., Laatikainen T., Alenius H., Auvinen P., Fyhrquist N., Hanski I. et al. Hunt for the origin of allergy – comparing the Finnish and Russian Karelia. *Clin. Exp. Allergy.* 2015; 45(5):891–901. DOI: 10.1111/cea.12527.
3. Haahtela T., Holgate S., Pawankar R., Akdis C.A., Benjapontipak S., Caraballo L. et al. The biodiversity hypothesis and allergic disease: world allergy organization position statement. *World Allergy Organ J.* 2013;6(1):3. DOI: 10.1186/1939-4551-6-3.
4. Dang A.T., Marsland B.J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol.* 2019;12(4):843–850. DOI: 10.1038/s41385-019-0160-6.

5. Smulders T., Van Der Schee M.P., Maitland-Van Der Zee A.H., Dijkers F.G., Van Drunen C.M. Influence of the gut and airway microbiome on asthma development and disease. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2024;35(3):e14095. DOI: 10.1111/pai.14095.
6. Olszak T., An D., Zeissig S., Vera M.P., Richter J., Franke A. et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science.* 2012;336(6080):489–493. DOI: 10.1126/science.1219328.
7. Lynch S.V., Wood R.A., Boushey H., Bacharier L.B., Bloomberg G.R., Kattan M. et al. Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014;134(3):593–601. e12. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.04.018.
8. Strachan D.P. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ.* 1989;299(6710):1259–1260. DOI: 10.1136/bmj.299.6710.1259.
9. Rook G.A., Lowry C.A., Raison C.L. Microbial ‘Old Friends’, immunoregulation and stress resilience. *Evol. Med. Public Health.* 2013;2013(1):46–64. DOI: 10.1093/emph/eot004.
10. Stokholm J., Thorsen J., Chawes B.L., Schjørring S., Krogfelt K.A., Bønnelykke K. et al. Cesarean section changes neonatal gut colonization. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016;138(3):881–889.e2. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.01.028.
11. Christensen E.D., Hjelmsø M.H., Thorsen J., Shah S., Redgwell T., Poulsen C.E. et al. The developing airway and gut microbiota in early life is influenced by age of older siblings. *Microbiome.* 2022;10(1):106. DOI: 10.1186/s40168-022-01305-z.
12. Depner M., Taft D.H., Kirjavainen P.V., Kalanetra K.M., Karvonen A.M., Peschel S. et al. Maturation of the gut microbiome during the first year of life contributes to the protective farm effect on childhood asthma. *Nat. Med.* 2020;26(11):1766–1775. DOI: 10.1038/s41591-020-1095-x.
13. Von Mutius E., Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat. Rev. Immunol.* 2010;10(12):861–868. DOI: 10.1038/nri2871.
14. Stein M.M., Hrusch C.L., Gozdz J., Igartua C., Pivniouk V., Murray S.E. et al. Innate immunity and asthma risk in amish and hutterite farm children. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375(5):411–421. DOI: 10.1056/NEJMoa1508749.
15. Strieker S., Weinmann T., Gerlich J., von Mutius E., Nowak D., Radon K. et al. Farm living and allergic rhinitis from childhood to young adulthood: Prospective results of the GABRIEL study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2022;150(5):1209–1215. e2. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.05.027.
16. Bassis C.M., Erb-Downward J.R., Dickson R.P., Freeman C.M., Schmidt T.M., Young V.B. et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *mBio.* 2015;6(2):e00037. DOI: 10.1128/mBio.00037-15.
17. Hilty M., Burke C., Pedro H., Cardenas P., Bush A., Bossley C. et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One.* 2010;5(1):e8578. DOI: 10.1371/journal.pone.0008578.
18. Thorsen J., Rasmussen M.A., Waage J., Mortensen M., Bjejnrod A., Bønnelykke K. et al. Infant airway microbiota and topical immune perturbations in the origins of childhood asthma. *Nat Commun.* 2019 Nov 1; 10(1):5001. DOI: 10.1038/s41467-019-12989-7.
19. Tang H.H.F., Lang A., Teo S.M., Judd L.M., Gangnon R., Evans M.D. et al. Developmental patterns in the nasopharyngeal microbiome during infancy are associated with asthma risk. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2021;47(5):1683–1691. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.10.009.
20. Thorsen J., Li X.J., Peng S., Sunde R.B., Shah S.A., Bhat-tacharyya M. et al. The airway microbiota of neonates colonized with asthma-associated pathogenic bacteria. *Nat. Commun.* 2023;14(1):6668. DOI: 10.1038/s41467-023-42309-z.
21. Toivonen L., Karppinen S., Schuez-Havupalo L., Waris M., He Q., Hoffman K.L. et al. Longitudinal changes in early nasal microbiota and the risk of childhood asthma. *Pediatrics.* 2020;146(4):e20200421. DOI: 10.1542/peds.2020-0421.
22. Teo S.M., Mok D., Pham K., Kusel M., Serralha M., Troy N. et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe.* 2015;17(5):704–715. DOI: 10.1016/j.chom.2015.03.008.
23. Zhu Z., Camargo C.A. Jr., Raita Y., Freishtat R.J., Fujiogi M., Hahn A. et al. Nasopharyngeal airway dual-transcriptome of infants with severe bronchiolitis and risk of childhood asthma: A multicenter prospective study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2022;150(4):806–816. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.04.017.
24. Bataineh M.T., Hamoudi R.A., Dash N.R., Ramakrishnan R.K., Almasalmeh M.A., Sharif H.A. et al. Altered respiratory microbiota composition and functionality associated with asthma early in life. *BMC Infect. Dis.* 2020;20(1):697. DOI: 10.1186/s12879-020-05427-3.
25. Bar K., Żebrowska P., Łaczmanski Ł., Sozańska B. Airway bacterial biodiversity in exhaled breath condensates of asthmatic children—does it differ from the healthy ones? *J. Clin. Med.* 2022;11(22):6774. DOI: 10.3390/jcm11226774.
26. Weinstock G.M. Genomic approaches to studying the human microbiota. *Nature.* 2012;489(7415):250–256. DOI: 10.1038/nature11553.
27. Enaud R., Prevel R., Ciarlo E., Beaufils F., Wieërs G., Guey B. et al. The gut-lung axis in health and respiratory diseases: a place for inter-organ and inter-kingdom crosstalks. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020;10:9. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00009.
28. Wypych T.P., Wickramasinghe L.C., Marsland B.J. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat. Immunol.* 2019;20(10):1279–1290. DOI: 10.1038/s41590-019-0451-9.
29. Zhong C., Guo J., Tan T., Wang H., Lin L., Gao D. et al. Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic outcomes in the second year. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2022;33(1):e13707. DOI: 10.1111/pai.13707.
30. Frei R., Ferstl R., Roduit C., Ziegler M., Schiavi E., Barcik W. et al. Exposure to nonmicrobial N-glycolylneuraminic acid protects farmers’ children against airway inflammation and colitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;141(1):382–390.e7. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.04.051.
31. Rook G.A., Adams V., Hunt J., Palmer R., Martinelli R., Brunet L.R. Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. *Springer Semin. Immunopathol.* 2004;25(3-4):237–255. DOI: 10.1007/s00281-003-0148-9.

32. Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M.C. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin. Exp. Allergy*. 2014;44(6):842–850. DOI: 10.1111/cea.12253.
33. Patrick D.M., Sbihi H., Dai D.L.Y., Al Mamun A., Rasali D., Rose C. et al. Decreasing antibiotic use, the gut microbiota, and asthma incidence in children: evidence from population-based and prospective cohort studies. *Lancet Respir. Med*. 2020;8(11):1094–1105. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30052-7.
34. Galazzo G., van Best N., Bervoets L., Dapaah I.O., Savelkoul P.H., Hornef M.W. et al. Development of the microbiota and associations with birth mode, diet, and atopic disorders in a longitudinal analysis of stool samples, collected from infancy through early childhood. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1584–1596. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.01.024.
35. Stokholm J., Blaser M.J., Thorsen J., Rasmussen M.A., Waage J., Vinding R.K. et al. Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. *Nat. Commun*. 2018;9(1):141. DOI: 10.1038/s41467-017-02573-2.
36. Chiu C.Y., Cheng M.L., Chiang M.H., Kuo Y.L., Tsai M.H., Chiu C.C. et al. Gut microbial-derived butyrate is inversely associated with IgE responses to allergens in childhood asthma. *Pediatr. Allergy Immunol*. 2019;30(7):689–697. DOI: 10.1111/pai.13096.
37. Lee-Sarwar K., Dedrick S., Momeni B., Kelly R.S., Zeiger R.S., O'Connor G.T. et al. Association of the gut microbiome and metabolome with wheeze frequency in childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2022;150(2):325–336. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.02.005.
38. Arrieta M.C., Stiemsma L.T., Dimitriu P.A., Thorson L., Russell S., Yurist-Doutsch S. et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci. Transl. Med*. 2015;7(307):307ra152. DOI: 10.1126/scitranslmed.aab2271.
39. Fujimura K.E., Sitarik A.R., Havstad S., Lin D.L., Levan S., Fadrosch D. et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat. Med*. 2016; 22(10):1187–1191. DOI: 10.1038/nm.4176.
40. Thavagnanam S., Fleming J., Bromley A., Shields M.D., Cardwell C.R. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 2008;38(4):629–633. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x.
41. Chu D.M., Ma J., Prince A.L., Antony K.M., Seferovic M.D., Aagaard K.M. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat. Med*. 2017;23(3):314–326. DOI: 10.1038/nm.4272.
42. Laursen M.F., Zachariassen G., Bahl M.I., Bergström A., Høst A., Michaelsen K.F. et al. Having older siblings is associated with gut microbiota development during early childhood. *BMC Microbiol*. 2015;15:154. DOI: 10.1186/s12866-015-0477-6.
43. Kirjavainen P.V., Karvonen A.M., Adams R.I., Täubel M., Roponen M., Tuoresmäki P. et al. Farm-like indoor microbiota in non-farm homes protects children from asthma development. *Nat. Med*. 2019;25(7):1089–1095. DOI: 10.1038/s41591-019-0469-4.
44. Ege M.J., Mayer M., Normand A.C., Genuneit J., Cookson W.O., Braun-Fahrlander C. et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N. Engl. J. Med*. 2011;364(8):701–709. DOI: 10.1056/NEJMoa1007302.
45. Keller A., Groot J., Clippet-Jensen C., Pinot de Moira A., Pedersen M., Sigsgaard T. et al. Exposure to different residential indoor characteristics during childhood and asthma in adolescence: a latent class analysis of the Danish National Birth Cohort. *Eur. J. Epidemiol*. 2024;39(1):51–65. DOI: 10.1007/s10654-023-01051-y.
46. Schuijs M.J., Willart M.A., Vergote K., Gras D., Deswarte K., Ege M.J. et al. Farm dust and endotoxin protect against allergy through A20 induction in lung epithelial cells. *Science*. 2015;349(6252):11061110. DOI: 10.1126/science.aac6623.
47. Gupta S., Hjelmsø M.H., Lehtimäki J., Li X., Mortensen M.S., Russel J. et al. Environmental shaping of the bacterial and fungal community in infant bed dust and correlations with the airway microbiota. *Microbiome*. 2020;8(1):115. DOI: 10.1186/s40168-020-00895-w.
48. Lehtimäki J., Gupta S., Hjelmsø M., Shah S., Thorsen J., Rasmussen M.A. et al. Fungi and bacteria in the beds of rural and urban infants correlate with later risk of atopic diseases. *Clin. Exp. Allergy*. 2023;53(12):1268–1278. DOI: 10.1111/cea.14414.
49. Karvonen A.M., Kirjavainen P.V., Täubel M., Jayaprakash B., Adams R.I., Sordillo J.E. et al. Indoor bacterial microbiota and development of asthma by 10.5 years of age. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2019;144(5):1402–1410. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.07.035.
50. O'Connor G.T., Lynch S.V., Bloomberg G.R., Kattan M., Wood R.A., Gergen P.J. et al. Early-life home environment and risk of asthma among inner-city children. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2018;141(4):1468–1475. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.06.040.
51. Dannemiller K.C., Mendell M.J., Macher J.M., Kumagai K., Bradman A., Holland N. et al. Next-generation DNA sequencing reveals that low fungal diversity in house dust is associated with childhood asthma development. *Indoor Air*. 2014;24(3):236–247. DOI: 10.1111/ina.12072.
52. Dannemiller K.C., Gent J.F., Leaderer B.P., Peccia J. Indoor microbial communities: Influence on asthma severity in atopic and nonatopic children. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2016;138(1):76–83.e1. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.11.027.
53. Von Mutius E., Smits H.H. Primary prevention of asthma: from risk and protective factors to targeted strategies for prevention. *Lancet*. 2020;396(10254):854–866. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31861-4.

Информация об авторах

Соколова Татьяна Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, sokolova.ts@ssmu.ru, 0000-0002-1085-0733

Мальчук Виктория Николаевна – аспирант, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, malchuk.viktorya@mail.ru, 0000-0003-0083-3398

Ногай Анита Аркадьевна – студентка 6-го курса, педиатрический факультет, СибГМУ, г. Томск, anita_2000vip@mail.ru, 0009-0002-4735-9099

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com, 0000-0002-7130-9609

Огородова Людмила Михайловна – д-р мед. наук, член-корр. РАН, профессор кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, kaf.fak.ped@ssmu.ru, 0000-0002-2962-1076.

(✉) **Соколова Татьяна Сергеевна**, sokolova.ts@ssmu.ru

Поступила в редакцию 02.05.2024;
одобрена после рецензирования 15.05.2024;
принята к публикации 13.06.2024

**А**

Абрамов В.К.	4
Абрамовских О.С.	2
Аверчук А.С.	4
Авлиякулыева А.М.	1
Агаева С.А.	4
Азаркина Л.А.	2
Александров В.Н.	4
Алексеева Н.Г.	3
Алексеева Н.П.	1
Алифорова В.М.	1
Алферов А.А.	1
Андреева Е.А.	2
Андреевская И.А.	2
Антакова Л.Н.	3
Апарцева Н.Е.	2
Аптекарь В.Д.	1
Аржаник А.А.	1
Аржаник М.Б.	1, 3, 4
Артамонов А.А.	3
Арутюнян Д.А.	2
Афанасьев С.А.	3
Ахмедов Т.А.	4
Ахметова А.А.	4

Б

Байдик О.Д.	4
Байков А.Н.	2
Барбараш О.Л.	2
Барило А.А.	2
Барсук И.А.	4
Белковец А.В.	2
Белобородова Е.В.	4
Белоусов М.В.	2, 3
Бердников А.К.	4
Березикова Е.Н.	3
Березовская Т.И.	2
Беспалова И.Д.	1, 2, 3
Боденко В.В.	2
Бородин Е.А.	4
Борщев Ю.Ю.	2
Борщева О.В.	2
Бохан Н.А.	4
Боярко В.В.	3
Бразовская Н.Г.	4
Будневский А.В.	3
Буйко Е.Е.	2, 4
Букреева Е.Б.	3

Буненков Н.С.	4
Буровенко И.Ю.	2
Быков В.В.	3
Быкова А.В.	3
Ваизова О.Е.	3
Валиахметов Н.Р.	2
Варвашеня Р.Н.	3
Васильева О.А.	4
Васильченко Д.В.	4
Ваулина Д.Д.	4
Вазик-Городецкая М.В.	4
Венгеровский А.И.	3
Винокурова Д.А.	1, 3, 4
Вишнякова П.А.	1
Власов С.Н.	4
Волчо К.П.	3
Воронкова О.В.	3
Воротиллов А.В.	4
Вторушин К.С.	3
Вторушин С.В.	3, 4

Г

Галагудза М.М.	2, 4
Галинцев Ю.В.	2
Галиуллин Р.И.	4
Галкин С.А.	1, 4
Галочкин С.А.	4
Гамирова К.А.	4
Гарбузова Е.В.	3
Гарганеева Н.П.	1
Герштейн Е.С.	1
Головина Е.Л.	3
Головинов И.В.	4
Головко К.П.	4
Голубенко М.В.	2
Голубовская Д.П.	2
Гончарова А.С.	4
Гордиенко А.В.	4
Гордон К.Б.	1
Горина Я.В.	1
Гракова Е.В.	1, 3
Григорьев И.В.	1
Гриценко Э.Ю.	2
Гриценко М.Ю.	4
Губарева А.М.	1
Гуркин Н.В.	3
Гусакова А.М.	3
Гусева О.В.	2
Гусельникова Ю.И.	2

Д

Давыдов Д.В.	3
Давыдова Е.П.	4
Дворниченко М.В.	2
Дегтярев И.Ю.	1
Деев С.М.	3
Джаффарова О.Ю.	3
Джуманиязова Э.Д.	1
Диане М.Л.	3
Димитриади С.Н.	4
Диркс И.И.	4
Дрень Е.В.	2
Дьякова М.Е.	1

Е

Егле А.П.	2
Елисеева Л.В.	4
Епринцев А.Т.	1
Еремина И.З.	1
Есимова И.Е.	3
Ефимова В.П.	1

Ж

Жданов В.В.	1
Жданова Е.В.	2
Житарева И.В.	3
Жуковец И.В.	2

З

Завадовская В.Д.	1
Завадовский К.В.	3
Завьялова М.В.	3
Зайнетдинова Л.Ф.	1
Захаркин И.А.	3
Захарова А.Н.	1, 3, 4
Зима А.П.	3
Зиновьев Е.А.	2
Зозуля С.А.	1
Золотов А.Н.	4
Зоркальцев М.А.	1
Зоря О.Т.	4
Зыкова М.В.	2

И

Иванов В.В.	2, 4
Иванов В.И.	2

Иванова А.А.	2
Иванова А.И.	3
Иванова С.А.	1
Иванова Ю.В.	2
Ивкин Д.Ю.	4
Ильина И.В.	3
Ильинских Е.Н.	3
Ильченко С.А.	2
Индутный А.В.	4

К

Кабельо Монтойа Ф.Э.	3, 4
Казимирский А.Н.	1, 4
Кайдаш О.А.	2, 4
Калачева Т.П.	4
Калюжин В.В.	1, 3, 4
Калюжина Е.В.	1, 3, 4
Камалтынова Е.М.	3
Каминский И.П.	4
Капилевич Л.В.	1, 4
Каприн А.Д.	1
Карзилов А.И.	2, 3
Каростик Д.В.	1
Карпенко В.В.	4
Карпов А.А.	4
Карпова М.И.	2
Карпова М.Р.	3
Карпова Н.С.	1
Карпулевич Е.А.	1
Каширина А.П.	2
Кашталап В.В.	2
Каштанова Е.В.	3
Ким А.Э.	1, 4
Киндякова Е.К.	1
Кириченко Н.А.	4
Кит О.И.	2
Китоян А.Г.	3
Ключник Т.П.	1
Кобалава Ж.Д.	1, 2, 3, 4
Ковалев И.В.	4
Ковалева О.В.	1
Колесник Ю.А.	2
Колесникова Л.И.	1
Коллантай О.В.	1, 4
Колобовникова Ю.В.	4
Колотьева Н.А.	4
Кононова Т.Е.	4
Копьева К.В.	1, 3
Корнетов А.Н.	4
Корнетова Е.Г.	1, 4
Коровина И.О.	1
Коротенко С.Н.	4
Костоломова Е.Г.	2

Костоякова Е.П.	2
Котельников Д.Д.	4
Кочетова Л.В.	1
Кочубей В.В.	3
Кошечкин С.И.	3
Кошавцева Ю.И.	3
Крахмаль Н.В.	3
Криночкин Д.В.	1
Крук Е.А.	2
Кручинина М.В.	2
Крюков Е.В.	3
Кузьмин Ю.Б.	1
Кузьмина С.В.	1
Кукла М.В.	4
Куленич В.В.	3
Куликов Е.С.	1
Кулумаева К.А.	4
Куприянов С.В.	2
Куражов А.П.	1
Кургузов А.В.	3
Курилович С.А.	2
Курносенко А.В.	4
Кучер А.Н.	1
Кушлинский Н.Е.	1

Л

Лапшин А.А.	4
Ларченко В.В.	3
Ларькина М.С.	2, 3
Лебедева Е.В.	4
Лебедева Н.Б.	2
Ли Н.А.	4
Лившиц И.К.	1
Логинова Ю.А.	2
Ломовских А.Ю.	4
Лопатина О.Л.	1
Лузанова Е.И.	2
Лысенко И.В.	2
Лязгян К.С.	2
Ляшев А.Ю.	3

М

Майсков В.В.	2, 3
Максимов В.Н.	2
Малиновский В.А.	4
Маль Г.С.	3
Мальцева А.Н.	3
Мальчук В.Н.	3, 4
Марзоль Е.А.	2
Маслов Л.Н.	3
Медведев Б.И.	1

Медведев М.А.	4
Меньшикова А.Н.	4
Мерай И.А.	2, 3
Месько П.Е.	3
Мигачева А.В.	1
Милованова К.Г.	1, 4
Минасян С.М.	2
Минеханов Т.Р.	3
Мисан И.А.	3
Митриченко У.М.	3
Митрийкин Н.С.	2
Михалев Д.Е.	4
Михалев Д.А.	2
Мишустина Е.Л.	2
Мордык А.В.	4
Мотов В.С.	3
Мочула А.В.	3
Муравьева Е.С.	3
Муслимова Э.Ф.	3
Мухомедзянов А.В.	3

Н

Назаренко М.С.	1, 2
Назаров И.С.	3, 4
Наумов Д.Е.	4
Наумов С.С.	3
Невская К.В.	3
Немцова Е.Г.	2
Нескубина И.В.	2
Нестерович С.В.	3, 4
Неупокоева М.Н.	3
Новиков Д.Г.	4
Ногай А.А.	4
Нонка Т.Г.	4
Носович Д.В.	4

О

Овсянников Е.С.	3
Огарков О.Б.	1
Огородова Л.М.	4
Одинцова В.Е.	3
Одинцова И.А.	2
Ожиганова Н.В.	2
Орлов С.В.	2
Орлова А.А.	1, 4
Орлова Е.А.	1
Осипов П.В.	1
Осокина Н.А.	1
Останко В.Л.	1, 4
Отман И.Н.	1

П

Павлюкова Е.Н.	2
Пан Э.С.	1
Панина М.И.	1, 4
Панченко А.В.	2
Парочкина Е.В.	2
Парфенов П.Г.	2
Паршина А.Ю.	3
Первеева И.М.	3
Перевозникова Ю.Е.	3
Перина Е.А.	2, 4
Перминова И.В.	2
Петелина Т.И.	1
Петкун Д.А.	4
Печерина Т.Б.	2
Пиневиц О.С.	3
Плешкова Е.К.	4
Плотников Е.В.	2, 3
Погонченкова Д.А.	4
Позднякова А.Н.	1
Полетика В.С.	4
Полонская Я.В.	2, 3
Полякова Д.В.	3
Попов С.А.	4
Попова А.А.	3
Попонникова Т.В.	3
Порядин Г.В.	1, 3, 4
Прач А.А.	2, 3
Пресняков Е.С.	1
Прохорова Т.А.	1
Птухин А.О.	4
Пурлик И.Л.	4
Пушникова Е.Ю.	1
Пшеворская Е.В.	1

Р

Рагино Ю.И.	3
Реброва Т.Ю.	3
Резанова З.И.	4
Рейнгардт Г.В.	4
Репин А.Н.	4
Рогожин Д.В.	1
Рогожина Л.С.	1, 4
Родионова Ю.О.	3
Розанова Н.А.	4
Романов Д.С.	3
Романова М.А.	4
Рубцова Е.В.	2
Рукавишникова С.А.	4

С

Савушкина О.И.	3
---------------------	---

Савушкина О.К.	1
Савченко Р.	2
Сагинбаев У.Р.	4
Салахов Р.Р.	2
Салахутдинов Н.Ф.	3
Салмаси Ж.М.	1, 4
Салмина А.Б.	4
Самгина Т.А.	1
Сапожникова А.Д.	1
Сафарова А.Ф.	1, 4
Свинцова Л.И.	3
Селиванова Н.В.	1
Семакин А.В.	4
Семёнова Н.Ю.	2
Семенова О.Л.	3, 4
Серебрякова В.А.	3
Сидорова Е.Е.	4
Симакина Е.А.	3
Синяков А.А.	2
Скачилова С.Я.	3
Скоблов М.Ю.	2
Слуцкая Д.Р.	2
Смирнов И.П.	3, 4
Смирнова С.В.	2
Сморгон А.В.	3
Собакин Д.С.	4
Соколова Т.С.	3, 4
Соколович Е.Г.	1
Солин А.В.	3
Сорокина Т.В.	3
Сотников А.В.	4
Ставровская А.В.	4
Старовойтова Е.А.	1, 3, 4
Стахнёва Е.М.	3
Стилиди И.С.	1
Ступин В.А.	1
Суворов А.Н.	2
Суханова К.С.	1
Счастный Е.Д.	4

Т

Тарасова Т.В.	3
Телешева Л.Ф.	1
Тепляков А.Т.	1, 3
Терентьева Н.Н.	1
Тетенев К.Ф.	2, 3
Тетенева А.В.	2, 3
Тимкин П.Д.	4
Тимофеев Э.А.	4
Тимофеева Т.М.	1
Титова Е.Г.	1
Толкачева В.В.	3, 4

У

Удут Е.В.	2, 4
Уразова О.И.	4
Успенский Ю.П.	2
Устинов Е.М.	2
Уфандеев А.А.	2, 4

Ф

Фатхудинов Т.Х.	1
Федорова О.С.	3, 4
Федосеева И.Ф.	3
Федосенко С.В.	1, 3, 4
Филинюк О.В.	2
Фоминых Ю.А.	2
Франциянц Е.М.	2

Х

Хазанов В.А.	3
Хайдар Д.А.	3
Хасанов А.Р.	4
Хасанова Р.Р.	3
Хахулина В.В.	1
Хлусов И.А.	2
Хмелевская Е.С.	2, 4
Хоанг Ч.Х.	2, 3
Хуцишвили Н.И.	3, 4

Ц

Цыденова И.А.	4
--------------------	---

Ч

Чайковский А.В.	1
Черемных Е.Г.	1
Чернов В.И.	2, 3
Черногорюк Г.Э.	1, 3
Чернышов Н.А.	3
Чернявская Г.М.	3
Чернявский А.М.	3
Четвернина Е.А.	2
Четверня Л.В.	4
Чжан Ю.	2
Чибалин А.В.	4
Чиркова М.В.	1
Чирский В.С.	2
Чомаева З.С.	3
Чумакова С.П.	4
Чурина Е.Г.	4

Ш

Шаловой А.А.	1
Шептицкий В.А.	2
Шиленко Л.А.	4
Шилов С.Н.	3
Шилов Ю.Е.	1
Широков Н.Е.	1
Сихлярова А.И.	2
Шишкина В.В.	3
Шрамко В.С.	3

Шувалов И.Ю.	1, 4
Шульга А.А.	4
Шустер С.Ю.	2

Щ

Щербакова Л.В.	2
---------------------	---

Э

Эдгеев Н.И.	4
Эсмедляева Д.С.	1

Ю

Юркина А.В.	2
Юсубов М.С.	3
Юшин А.Ю.	3
Якимович И.Ю.	4
Ямпольская А.В.	3
Ямпольская О.В.	3
Янушевич О.О.	1
Ярославская Е.И.	1
Яснецов В.В.	3

Издательский дом Сибирского государственного медицинского университета представляет серию книг «Наследие томской медицины»



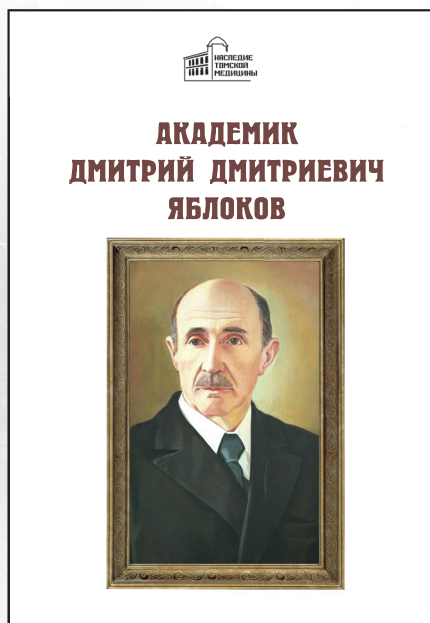
Книга посвящена 130-летию кафедры госпитальной хирургии СибГМУ. Приведены биографические данные 79 сотрудников клиники и кафедры госпитальной хирургии в период с 1892 по 2022 г. Им предшествует подробная статья, характеризующая основные научно-практические достижения коллектива на каждом историческом отрезке. В издании упомянуты не только выдающиеся хирурги, звезды мировой величины, но и рядовые профессора, доценты, ассистенты, врачи-ординаторы, многие из которых связали с кафедрой и клиникой всю свою трудовую биографию. При изложении материала наряду с традиционными источниками информации использованы автобиографические документы, данные из семейных архивов, производственные характеристики нередко с сохранением авторского стиля.

Это позволяет полнее ощутить атмосферу в обществе и рабочем коллективе в разные годы существования клиники. Текстовая информация сопровождается богатым иллюстративным материалом, многие фотографии опубликованы впервые.

Издание предназначено для хирургов, студентов старших курсов врачебных факультетов, специалистов по истории медицины.

Трёхтомная иллюстрированная летопись одного из старейших и наиболее авторитетных медицинских вузов России — Сибирского (Томского) государственного медицинского университета является по сути первой серьёзной попыткой осветить более чем 140-летнюю историю этого прославленного университета. Особенностью издания является его богатейший иллюстративный материал, включающий более четырёх тысяч фотографий (в том числе ранее практически неизвестных), и никогда не публиковавшиеся до этого крайне любопытные и интересные факты о жизни университета, его студентов и профессоров, воспоминания и рассказы выпускников и преподавателей вуза.

Для самого широкого круга читателей, интересующихся историей российских университетов, отечественного высшего медицинского образования и науки, развитием клинических и научно-медицинских школ, здравоохранения, историей Томска, Сибири, России...



В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося ученого, терапевта, клинициста, академика АМН СССР, Героя Социалистического труда, лауреата Сталинской премии Дмитрия Дмитриевича Яблокова (1896-1993).

Для врачей, студентов, всех интересующихся историей медицины.

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
Bülleten' sibirskoj mediciny
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 общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской»

медицины/Bulletin of Siberian Medicine» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий.

С целью объединения научной медицинской общности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор — член-корреспондент РАН О.И. Уразова.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.

ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах «Бюллетень сибирской медицины» публикуются



Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера
Том 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети



















