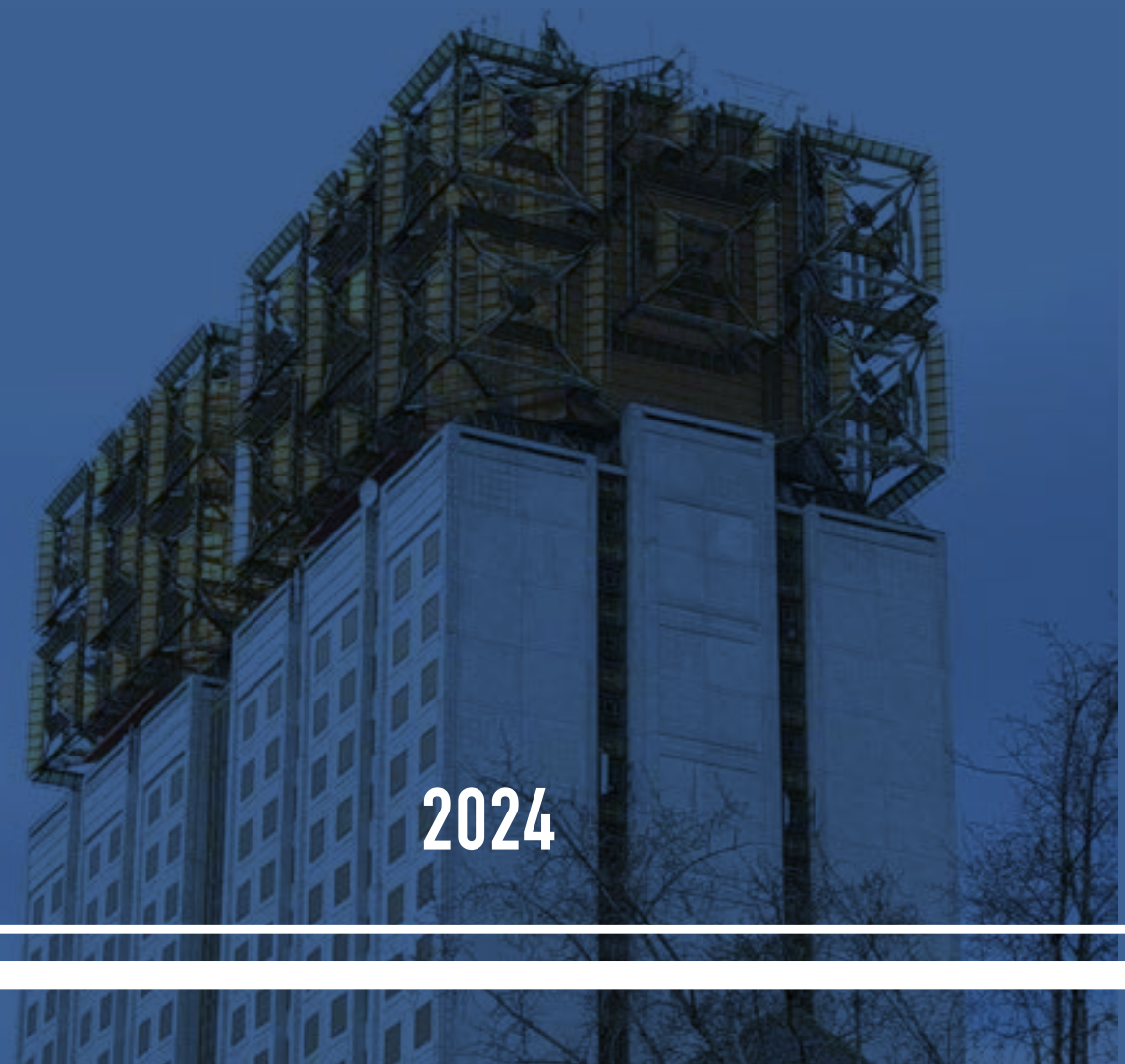
300 лет
Российская Академия Наук

Всероссийский Форум молодых учёных,
посвящённый 300-летию Российской академии наук и
80-летию создания Академии медицинских наук СССР (РАМН)

«МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА»

СБОРНИК СТАТЕЙ И ТЕЗИСОВ



2024

УДК-61
ББК 5

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ.

Сборник статей и тезисов. Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра» – М.: Издательство «Тритон», 2024. – 2198 стр.

ББК 5

В данном сборнике собраны все работы молодых ученых, присланные на Всероссийский Форум молодых учёных, посвящённый 300-летию РАН и 80-летию создания Академии медицинских наук СССР (РАМН) «Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра». Работы систематизированы по разделам медицины и печатаются в алфавитном порядке. Для сохранения исторической значимости и в надежде, что через годы эти молодые ученые станут академиками, все работы печатаются в аутентичном виде.

ISBN 978-5-6048290-3-5

СОДЕРЖАНИЕ

Акушерство 4
Биоорганическая, бионеорганическая и медицинская химия 161
Болезни нервной системы 231
Генетические технологии в здравоохранении 328
Гигиена и профилактическая медицина 537
Инновационные методы и технологии 732
Инфекционные болезни 994
Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия 1128
Нейрохирургия 1277
Организация и цифровизация здравоохранения 1339
Педиатрия 1489
Терапевтические науки 1585
Фундаментальны исследования в медицине 1712
Хирургические науки 1891
Эпидемиология 2076

АКУШЕРСТВО

Нестор Амбодик (1744–1812)

«Солнце не должно дважды вставать над роженицей»

Вульвовагинальная атрофия: проблемы лечения и реабилитации

Д.М. Ампилогова[1], А.Г. Солопова[1], Д.В. Блинов[2–4], Е.Е. Ачкасов[1], Д.А. Петренко✉[1], Д.И. Корабельников[2]

[1]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;
[2]АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза», Москва, Россия;
[3]ООО «Институт превентивной и социальной медицины», Москва, Россия;
[4]Группа компаний «Мать и Дитя», Лапино, Россия

Аннотация

В обзоре представлены данные по тактике ведения женщин с вульвовагинальной атрофией (ВВА) репродуктивного возраста и в менопаузе. Рассмотрены влияние ВВА на психоэмоциональную и сексуальную сферы, современные методы диагностики и терапии данной патологии. Особое внимание уделено роли реабилитации и комплексного междисциплинарного подхода к пациенткам с симптомами атрофических изменений урогенитального тракта: обобщен опыт реабилитационных мероприятий на примере зарубежных и отечественных исследований, обозначена эффективность «пререабилитации» на этапе периода от постановки диагноза до начала лечения. Сохраняется необходимость в дальнейших исследованиях комплексной реабилитации и внедрение ее в клинические рекомендации.

Ключевые слова: генитоуринарный синдром, вульвовагинальная атрофия, дистресс, психоэмоциональное благополучие, сексуальная дисфункция, реабилитация, междисциплинарный подход

Для цитирования: Ампилогова Д.М., Солопова А.Г., Блинов Д.В., Ачкасов Е.Е., Петренко Д.А., Корабельников Д.И. Вульвовагинальная атрофия: проблемы лечения и реабилитации. Гинекология. 2022;24(4):240–245. DOI: 10.26442/20795696.2022.4.201792

REVIEW

Vulvovaginal atrophy: issues of treatment and rehabilitation: A review

Diana M. Ampilogova[1], Antonina G. Solopova[1], Dmitry V. Blinov[2–4], Evgeny E. Achkasov[1], Daria A. Petrenko✉[1], Daniil I. Korabelnikov[2]

[1]Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;
[2]Haass Moscow Medical and Social Institute, Moscow, Russia;
[3]Institute of Social and Preventive Medicine, Moscow, Russia;
[4]"Mother and Child" Group of Companies, Lapino, Russia

Abstract

The review presents data on the management tactics of women with vulvovaginal atrophy in patients of reproductive age and menopause. The influence of vulvovaginal atrophy on the psycho-emotional and sexual spheres, modern methods of diagnosis and therapy of this pathology are considered. Special attention is paid to the role of rehabilitation and an integrated interdisciplinary approach to patients with symptoms of atrophic changes in the urogenital tract: the experience of rehabilitation measures is highlighted on the example of foreign and local studies, the effectiveness of "prerehabilitation" at the stage of the period from diagnosis to treatment is indicated. There is still a need for further studies of complex rehabilitation and its implementation in clinical recommendations.

Keywords: genitourinary syndrome, vulvovaginal atrophy, distress, psychoemotional well-being, sexual dysfunction, rehabilitation, interdisciplinary approach

For citation: Ampilogova DM, Solopova AG, Blinov DV, Achkasov EE, Petrenko DA, Korabelnikov DI. Vulvovaginal atrophy: issues of treatment and rehabilitation: A review. Gynecology. 2022;24(4):240–245. DOI: 10.26442/20795696.2022.4.201792

Информация об авторах / Information about the authors

✉**Петренко Дарья Андреевна** – клин. ординатор каф. клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: petrenkodasha17@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5849-5585

Ампилогова Диана Михайловна – клин. ординатор каф. акушерства и гинекологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-3509-9501

Солопова Антонина Григорьевна – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-7456-2386

Блинов Дмитрий Владиславович – канд. мед. наук, преподаватель каф. неврологии, психиатрии и наркологии АНО ДПО «ММСИ им. Ф.П. Гааза», рук. по медицинским и научным вопросам ООО ИПСОМ, врач-невролог Клинического госпиталя «Лапино» ГК «Мать и Дитя». E-mail: blinov2010@googlemail.com; ORCID: 0000-0002-3367-9844; SPIN-код: 9779-8290

✉**Daria A. Petrenko** – Clinical Resident, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). E-mail: petrenkodasha17@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5849-5585

Diana M. Ampilogova – Clinical Resident, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). ORCID: 0000-0002-3509-9501

Antonina G. Solopova – D. Sci. (Med.), Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). ORCID: 0000-0002-7456-2386

Dmitry V. Blinov – Cand. Sci. (Med.), Haass Moscow Medical and Social Institute, Institute of Social and Preventive Medicine, GC "Mother and Child". E-mail: blinov2010@googlemail.com; ORCID: 0000-0002-3367-9844; SPIN code: 9779-8290

Введение

В настоящее время наблюдается мировая тенденция к увеличению продолжительности жизни, вместе с тем повышается процент женщин в периоде постменопаузы в структуре общей популяции [1, 2]. По данным литературы, в Российской Федерации средний возраст наступления менопаузы составляет в среднем от 49 лет до 51 года [3]. Таким образом, женщина проводит около 1/3 всей жизни в состоянии гипоэстрогении постменопаузального периода. Дефицит эстрогенов ведет к различным морфофункциональным изменениям, включая генитоуринарный менопаузальный синдром (ГУМС) [4]. Он проявляется в виде патологических процессов, возникающих в тканях женской репродуктивной системы и мочевого тракта на фоне гипоэстрогении. Наиболее частым проявлением представляется вульвовагинальная атрофия (ВВА), которая значительно меняет качество жизни, вызывая нарушения психологического комфорта, эмоциональной гармонии, сексуальной функции, социальной адаптации и отношений с близкими [5, 6]. Стоит отметить, что ГУМС может возникать и у женщин репродуктивного возраста, что может быть связано с физиологической гиперпролактинемией и ановуляцией в период лактации или являться следствием агрессивных методов противоопухолевого лечения при онкогинекологической патологии. По статистическим данным, наблюдается рост заболеваемости злокачественными новообразованиями, причем в последние годы характерным признаком стало «омоложение» рака (более частое появление у лиц репродуктивного периода) [7–9]. У этой группы пациенток особенно важно сохранять их психоэмоциональную стабильность и сексуальную функцию в связи с приоритетностью вопросов создания семьи и собственной социальной реализации. Достижение описанных целей возможно благодаря правильно организованным подходам к реабилитации пациенток с симптомами ГУМС, в частности с ВВА [9, 10].

Эпидемиология ВВА

В российской популяции симптомы урогенитального синдрома, или ВВА, встречаются в перименопаузе у 15% женщин, а в постменопаузе – у 80%. Наличие хотя бы одного признака атрофического процесса в женских половых органах обнаруживают у 41% женщин в возрасте 50–79 лет [3]. Эти показатели подтверждаются результатами исследований: в социологическом интернет-опросе REVIVE, проводившемся в США, у 36% участниц (3046 женщин) были жалобы, связанные с проявлениями ВВА (общая выборка составила 8081 женщину постменопаузального периода) [11]; аналогичное по дизайну европейское исследование REVIVE-EU, включавшее анкетирование 3768 женщин в возрасте 45–75 лет из Италии, Германии, Испании и Великобритании, продемонстрировало, что симптомы ВВА в течение последнего месяца до опроса испытывали 47,7% опрошенных, в течение последних 6 мес – 65,8% [12]. Таким образом, ВВА значительно распространена – как среди женщин в периоде постменопаузы, так и у пациенток в возрасте до 40 лет, на этапе их активной фертильности, при этом показатели российской популяции схожи с результатами исследований зарубежных коллег.

Этиология и патогенез ВВА

ВВА – это прогрессирующая инволюция слизистой оболочки вульвы и влагалища в условиях дефицита половых гормонов, в первую очередь эстрогенов, характеризующаяся симптомокомплексом поражения урогенитального тракта [13]. Эстрогензависимые структуры полового и нижней трети мочевого трактов (уретра, мочевой пузырь, влагалище, связочный аппарат, мышечный и соединительнотканный компонент тазового дна, сосудистые сплетения) в условиях дефицита стероидных гормонов претерпевают замедление пролиферативных процессов в митотически активных слоях при сохранной скорости слущивания верхних слоев, и общая толщина эпителия уменьшается, слизистая оболочка истончается. Промежуточные и поверхностные клетки вырабатывают меньше гликогена, необходимого для питания лактобактерий, которые преобладают в нормоценозе влагалища и участвуют в поддержании pH влагалищной среды на оптимальном уровне (от 3,8 до 4,5), при котором не активируется условно-патогенная и патогенная флора. Недостаток полисахарида способствует элиминации кислотопродуцирующих лактобацилл из биотопа и нарушению баланса кислой среды в сторону повышения pH – развиваются благоприятные условия для активации болезнетворных микроорганизмов и возникновения инфекционно-воспалительных изменений [5, 6]. Гипоэстрогения также влияет на метаболизм и качество коллагена I и III типов, эластина, приводя к их деструктуризации, уменьшению объема подслизистой сосудистой сети, ишемии стенки влагалища и снижению транссудации. Утрата складчатости, нормальной глубины и просвета вагинального канала, опущение стенок влагалища, истончение и малоэластичность атрофического эпителия в совокупности с нарушенной естественной защитой микробиоценоза составляют основное звено патогенеза ВВА [4–6].

Причинами снижения содержания эстрогенов выступают физиологические процессы: период пре- и постменопаузы, лактации с гиперпродукцией пролактина и ановуляцией, а также множество других патологических состояний: травматизация при применении урогинекологических пессариев, хирургическая менопауза, терапия гонадотропин-рилизинг-гормоном, функциональная гипоталамическая ановуляция, яичниковая недостаточность вследствие химиотерапии, лучевой радиации, генетических особенностей, инфекционной и аутоиммунной природы [6, 12, 14].

ВВА у женщин репродуктивного возраста

Дефицит эстрогенов у женщин фертильного возраста может быть следствием как редких генетических заболеваний, так и более частых событий в виде преждевременной яичниковой недостаточности вследствие радиотерапии,

Ачкасов Евгений Евгеньевич – д-р мед. наук, проф., зав. каф. спортивной медицины и медицинской реабилитации Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0001-9964-5199; SPIN-код: 5291-0906

Evgeny E. Achkasov – D. Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). ORCID: 0000-0001-9964-5199; SPIN code: 5291-0906

Корабельников Даниил Иванович – канд. мед. наук, проф. каф. внутренних болезней с курсами семейной медицины, функциональной диагностики, инфекционных болезней, ректор АНО ДПО «ММСИ им. Ф.П. Гааза». ORCID: 0000-0002-0459-0488; SPIN-код: 7380-7790

Daniil I. Korabelnikov – Cand. Sci. (Med.), Haass Moscow Medical and Social Institute. ORCID: 0000-0002-0459-0488; SPIN code: 7380-7790

химиотерапии, аутоиммунных процессов. ВВА часто встречается у больных онкогинекологического профиля, прошедших противоопухолевое лечение, которое часто вызывает эстрогенную депривацию, а также оперативное полурадикальное или радикальное вмешательство с формированием хирургической менопаузы [13, 14].

Ионизирующее излучение в рамках радиотерапии оказывает разрушительное воздействие на функцию половых желез, при этом степень повреждения зависит от дозы, поля облучения и возраста пациентки. После завершения радиотерапии нередко возникает повреждение тканей в радиусе непосредственного лучевого излучения и последующее рубцевание. Все это лежит в основе клинического проявления ВВА: жжение и зуд в области вульвы и влагалища, сухость, диспареуния, патологические выделения, комплекс дизурических расстройств, снижение либидо и сексуальная дисфункция [13].

Стоит отметить, что ГУМС у пациенток репродуктивного возраста, перенесших двустороннюю овариэктомию, несет более агрессивный и выраженный характер по сравнению с ГУМС у женщин постменопаузального периода. Это связано с тем, что в случае физиологического климактерия все инволютивные изменения происходят по закономерному и последовательному механизму, с постепенным плавным угасанием менструальной функции, что позволяет своевременно активировать адаптационно-защитные процессы женского организма и приспособиться к процессу «старения». В случае же радикального хирургического вмешательства, произведенного в фертильном возрасте, происходит полное выключение одного из ведущих звеньев регуляции половой системы. Резкое истощение приспособительных резервов обусловливает ускоренный и крайне выраженный инволютивно-дегенеративный патогенетический круг, проявляющийся в гораздо более грубых расстройствах морфологического и функционального паттерна мочеполовой системы, психоэмоциональной и сексуальной сфер, а соответственно, в снижении качества жизни [14–17].

Оценить качество жизни женщин, испытывающих симптомы ВВА, можно с помощью специальных опросников: среди них общий опросник функционального состояния при лечении рака (Functional Assessment of Cancer Therapy – General, FACT-G), индекс женской сексуальной функции FSFI (Female Sexual Function Index), опросник качества жизни Европейской организации исследования и лечения рака QLQ-C30 (European Organisation for Research and Treatment of Cancer – EORTC), САН (самочувствие, активность, настроение) и др. [18–21].

Лечение ВВА

Выбор тактики лечения ВВА зависит от причины ГУМС у пациентки, ее «профиля», коморбидных патологий, личных предпочтений и возраста. В качестве 1-й линии терапии у женщин, выживших после радикального лечения онкогинекологических заболеваний, выступают негормональные средства в виде вагинальных смазок, лубрикантов, увлажняющих гелей и кремов. Вследствие отсутствия в составе стероидных гормонов эта терапия назначается больным с абсолютными противопоказаниями к менопаузальной заместительной гормональной терапии (ЗГТ), а также при страхе и нежелании самой женщины принимать «опасные гормональные препараты» [22]. Современные вагинальные лубриканты не только устраняют или смягчают явления сухости, дискомфорта во влагалище, но и могут способствовать локальному снижению pH и нормализации местного микробиоценоза. Согласно многочисленным исследованиям водорастворимые смазки имеют меньшее число побочных эффектов в сравнении с силиконовыми вариантами [23, 24].

«Золотым стандартом» лечения ВВА представляется местная гормональная терапия эстриолом в виде вагинальных свечей, капсул, крема. Эстриол селективно связывается с рецепторами тканей мочеполового тракта, что обусловливает его большую безопасность относительно тяжелых и опасных системных эффектов в сравнении с эстрадиолом. Эстриол запускает на местном уровне репаративные процессы, восстанавливает нормальную толщину эпителия влагалища за счет активации пролиферативных слоев, нормализует синтез коллагена и эластина, способствует снижению pH до референсного диапазона, благоприятного для преобладания полезной флоры [5, 25]. Однако специалисты до сих пор с повышенной настороженностью назначают местно эстриол ввиду отсутствия достаточной базы исследований по профилям безопасности в отдаленном периоде.

В литературе упоминается опыт местного применения дегидроэпиандростерона и тестостерона для снижения симптомов ВВА, но это не несет практической ценности из-за отсутствия исследований по оценке долгосрочной безопасности данных препаратов [26, 27].

Системная гормональная терапия может включать монотерапию эстрогенами, прогестагенами, комбинированными гормональными препаратами эстрогенов и прогестагенов и является тактикой выбора при тяжелых климактерических расстройствах, включающих не только местные урогенитальные патологии, но и другие системные патофизиологические менопаузальные звенья. Польза системной ЗГТ может превысить риски у женщин без противопоказаний к ЗГТ, моложе 60 лет или находящихся в постменопаузе на протяжении не более 10 лет. Возможные неблагоприятные последствия связаны с отрицательным действием эстрогенов при активации ими рецепторов чувствительных тканей всего организма, что выражается в повышении вероятности развития эстрогензависимых опухолей, в особенности рака молочной железы и эндометрия, гиперплазии эндометрия, сосудистых тромбоэмболических осложнений, инфаркта миокарда, нарушений процессов секреции и выведения желчи, печеночной дисфункции, инсультов и деменции [28, 29].

Дополнительной опцией терапии ВВА является препарат оспемифен из группы селективных модуляторов рецепторов эстрогена. Он может быть предложен женщинам в качестве альтернативы системной гормональной терапии ввиду меньшего риска тромбоэмболических осложнений и влияния на эндометрий. Применение селективных модуляторов рецепторов эстрогена должно быть крайне осторожным в связи с отсутствием достаточного количества рандомизированных клинических исследований [30].

В настоящее время Международное общество по изучению вульвовагинальных заболеваний (International Society for the Study of Vulvovaginal Disease – ISSVD) не одобряет использование лазерных технологий вне рамок клинических исследований: в метаанализах, посвященных использованию лазера для лечения ВВА и нарушений мочеиспускания, отмечается, что научных данных недостаточно для демонстрации эффективности и безопасности этого метода [29]. Кроме того, у специалистов вызывают беспокойство данные по усилению боли у пациенток после применения CO_2-лазера [31].

Реабилитация пациенток с ВВА

ВВА оказывает значительное влияние на все аспекты жизни женщины, особенно тяжелые последствия в психической и сексуальной сферах появляются у пациенток репродуктивного возраста. В связи с этим таким больным особенно

необходимо своевременное оказание медицинской помощи, включающей реабилитационные мероприятия с привлечением мультидисциплинарных команд специалистов-гинекологов, онкологов, реабилитологов, психологов и психотерапевтов, физиотерапевтов [32].

Зарубежные источники предлагают улучшать инструменты скрининга и оценки самочувствия пациентки с онкогинекологическим заболеванием в рамках рутинной клинической практики путем применения на консультациях опросников по различным соматическим и психическим симптомам [32–34].

Важной стратегией в любой реабилитационной программе или при любом вмешательстве является создание у больных чувства самоконтроля, что может оказаться отличной мотивацией для повышения комплаенса [33].

Значимую роль в реабилитации женщин с ВВА играют физические упражнения на мышцы малого таза, курорто- и климатотерапия, правильное питание, обогащенное витаминами и микроэлементами [35].

Т.А. Блбулян и соавт. провели проспективное рандомизированное сравнительное исследование, включавшее 47 женщин после оперативного лечения рака вульвы I–II стадии в возрасте от 38 до 70 лет. Пациентки были поделены на 2 группы, одна из них включала 24 участницы, которые проходили курс реабилитационных мероприятий индивидуальной и групповой психотерапии, получали «противораковую диету», дозированную физическую активность, динамическую коррекцию биоценоза влагалища. Другая группа включала 23 пациентки, не проходившие программу реабилитации. Качество жизни женщин, их психоэмоциональное состояние оценивались по опросникам EORTC, FSFI, CAH и FACT-G. Продемонстрировано отрицательное влияние на качество жизни: по опроснику EORTC QLQ-C30 интегральный показатель общего качества жизни составил 64,8 балла, по FACT-G – 68,2 балла. Женщины отмечали ограничение физической активности, проблемы в психосоциальной сфере и эмоциональном балансе. Было выявлено значительное снижение параметров по опроснику CAH, индекс сексуальной функции FSFI также не достигал нормального диапазона. В ходе реабилитации у основной группы пациенток уже в первые 3 мес наблюдался рост всех составляющих FSFI и EORTC, кроме когнитивной функции, и разница с группой сравнения была существенной. В течение года наблюдения установлено улучшение показателей FSFI: процент пациенток, испытывающих половое влечение, вырос на 20,9% (в группе сравнения – всего на 8,7%); число женщин с диспареунией уменьшилось с 25 до 4,2% в основной группе и с 21,7 до 13% – в группе сравнения; удовлетворены своей сексуальной жизнью оказались 70,8% женщин, прошедших реабилитацию, и всего 60,9% из группы сравнения. Различия параметров по FACT-G оказались также статистически значимыми, составив 19,9 балла в 1-й группе и лишь 6,8 балла – во 2-й, по данным EORTC рост показателей оказался в среднем 14,8 балла в основной группе и только 7,8 балла – в группе сравнения. Исследователи показали необходимость ранней послеоперационной реабилитации больных раком вульвы, включая женщин репродуктивного возраста, в связи с ее достоверным положительным воздействием на расстройства психоэмоционального спектра и сексуальной функции, а также продемонстрировали высокую эффективность применения опросников FSFI, EORTC, FACT-G, CAH в качестве инструментов оценки общего качества жизни пациенток гинекологического профиля, включая онкологический спектр патологий [36].

В последнее время получает все большее распространение «пререабилитация», заключающаяся в осуществлении психологической, психотерапевтической и другой специализированной медицинской помощи на этапе от момента постановки диагноза до начала лечения. Такая «предупреждающая» стратегия представляется эффективной в связи с тем, что пациенты испытывают максимальный стресс именно в процессе осознания и принятия диагноза (в частности, онкологического) и ожидания тяжелого пути лечебных мероприятий. Своевременная реабилитация помогает пациенту предотвратить травмирующее воздействие постановки диагноза, принять сложившуюся ситуацию и настроиться на прохождение требуемого объема терапии. Одним из способов внедрения «пререабилитации» в рутинную клиническую практику на системном законодательном уровне является раннее информирование реабилитационных центров о появлении такого больного с онкогинекологической проблемой, нуждающегося в комплексной реабилитации, четкая маршрутизация и преемственность между лечебными учреждениями и специалистами [37].

На данный момент в системе здравоохранения РФ нет регламентированной реабилитационной программы для пациенток с ВВА как исхода противоопухолевого лечения, а также компонента ГУМС в рамках естественного репродуктивного старения. Вместе с тем персонализированная программа активной реабилитации, которая должна индивидуально разрабатываться с участием мультидисциплинарной команды специалистов (акушер-гинеколог, онколог, врач физической и реабилитационной медицины, сексолог, психолог/психотерапевт, невролог, диетолог и другие) и включать модификацию образа жизни, использование лубрикантов, эмолентов, упражнения для тренировки мышц тазового дна, терренкур, климато- и ландшафтотерапию, водолечение, фитотерапию, медикаментозную поддержку, физиотерапевтические процедуры, а также индивидуальную и групповую психотерапевтическую работу, будет способствовать улучшению качества жизни пациенток с ВВА и снижению нагрузки на систему здравоохранения.

Для объективной оценки эффективности предложенной программы активной реабилитации больных с ВВА требуются дальнейшие исследования. Комплекс восстановительных мероприятий также следует включить в клинические рекомендации по ВВА.

Неудовлетворенные потребности пациентов

ВВА нередко остается «ретроспективным» диагнозом, постановка которого упускается в ходе ведения пациентки по причинам отсутствия должной осведомленности самой женщины о проявлениях данной патологии, смущения и нежелания говорить о проблемах интимного характера со специалистом. Не менее важную роль в своевременном обнаружении ВВА несет информированность консультирующих специалистов о проявлениях ГУМС и необходимости опроса пациентки по поводу наличия у нее характерных симптомов, изменений в ее сексуальной сфере. Согласно европейскому исследованию REVIVE всего лишь 62% врачей задавали вопросы на тему возможных явлений ВВА в ходе сбора анамнеза у своих пациенток в постменопаузе [12]. Данные литературы демонстрируют недостаточность просвещения населения в вопросах репродуктивного старения.

Другой проблемой выступает отсутствие регламентированной и внедренной в стандарты оказания медицинской помощи на уровне системы здравоохранения РФ реабилитационной программы для больных с патологиями гинекологического и онкогинекологического спектра. Для успешного ведения пациенток с ВВА необходимо как можно раньше, с момента постановки диагноза, начинать восстановительные мероприятия, включающие

мультидисциплинарный подход с привлечением акушеров-гинекологов, онкогинекологов, психологов, неврологов, психиатров, специалистов восстановительной и реабилитационной медицины, гинекологов, онкологов.

Несмотря на наличие лечебно-оздоровительных и санаторно-курортных центров с минеральными водами и различными индивидуальными и групповыми восстановительными программами, в России все еще не сформирована четкая преемственность между клиническими и реабилитационными учреждениями, маршрутизация данного спектра пациенток от одних специалистов к другим, поэтому многие их потребности в таких реабилитирующих мероприятиях остаются неудовлетворенными [10, 37, 38].

Заключение

ВВА – это проблема женщин как постменопаузального периода, так и репродуктивного. Учитывая тенденцию к росту онкологической заболеваемости и общему старению населения как во всем мире, так и в России, специалисты должны иметь повышенную настороженность в отношении возможного наличия ГУМС у обращающихся к ним пациенток в пери-, постменопаузе и в фертильном возрасте.

ВВА наиболее часто сопровождается жжением, зудом, сухостью и дискомфортом во влагалище, диспареунией, расстройством мочеиспускания и проблемами психосоциального характера, оказывающими травмирующее действие на сексуальную функцию женщины. Все это ведет к снижению общего качества жизни пациенток, что отражается по опросникам FSFI, EORTC, CAH, которые целесообразно включать в план рутинного приема женщины у гинеколога, онколога и других смежных специалистов.

В связи со значительным отрицательным влиянием ВВА на все сферы жизни пациенток гинекологического и онкогинекологического профилей внедрение персонализированных программ комплексной активной реабилитации с момента постановки диагноза в ведении таких пациенток представляется необходимым и эффективным. Однако вопрос официального внедрения программ комплексной активной реабилитации с применением междисциплинарного подхода на уровне системы здравоохранения РФ все еще остается открытым и требует дальнейших исследований и организационных решений.

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

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Литература/References

1. Nichols HB, Trentham-Dietz A, Hampton JM, et al. From menarche to menopause: trends among US Women born from 1912 to 1969. *Am J Epidemiol.* 2006;164(10):1003-11. DOI:10.1093/aje/kwj282
2. Dratva J, Gómez Real F, Schindler C, et al. Is age at menopause increasing across Europe? Results on age at menopause and determinants from two population-based studies. *Menopause.* 2009;16(2):385-94. DOI:10.1097/gme.0b013e31818aefef
3. Клинические рекомендации: менопауза и климактерическое состояние у женщины. Российское общество акушеров-гинекологов, 2021 [Klinicheskie rekomendatsii: menopauza i klimakterichеskoe sostoianie u zhenshchiny. Rossiiskoe obshchestvo akusherov-ginekologov, 2021 (in Russian)].
4. Portman DJ, Gass ML. Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Climacteric.* 2014;17(5):557-63. DOI:10.1097/GME.0000000000000329
5. Макацария А.Д., Блинов Д.В., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х. Лечение эстриолом вульвовагинальной атрофии в постменопаузе: обновление научных данных 2014–2018 гг. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2019;13(3):227-38 [Makatsariia AD, Blinov DV, Bitsadze VO, Khizroeva DKh. Lechenie estriolom vul'vovaginal'noi atrofii v postmenopauze: obnovlenie nauchnykh dannykh 2014–2018 g. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2019;13(3):227-38 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347.2019.13.227-238
6. Ермакова Е.И. Генитоуринарный менопаузальный синдром: диагностика и принципы лечения. *Медицинский совет.* 2019;(13):106-11 [Ermakova EI. Genitourinarnyi menopauzal'nyi sindrom: diagnostika i printsipy lecheniia. *Meditsinskii sovet.* 2019;(13):106-11 (in Russian)]. DOI:10.21518/2079-701X-2019-13-106-111
7. Аполихина И.А., Горбунова Е.А. Клинико-морфологические аспекты вульвовагинальной атрофии. *Медицинский совет.* 2014;(9):110-17 [Apolikhina IA, Gorbunova EA. Kliniko-morfologicheskie aspekty vul'vovaginal'noi atrofii. *Meditsinskii sovet.* 2014;(9):110-17 (in Russian)]. DOI:10.21518/2079-701X-2014-9-110-117
8. Глазунова А.В., Юренева С.В. Распространенность вульвовагинальной атрофии и ее влияние на качество жизни женщин. Вопросы терминологии и безопасности локальной гормональной терапии. *Акушерство и гинекология.* 2014;(11):29-33 [Glazunova AV, Iureneva SV. Rasprostranennost' vul'vovaginal'noi atrofii i ee vliianie na kachestvo zhizni zhenshchin. Voprosy terminologii i bezopasnosti lokal'noi gormonal'noi terapii. *Akusherstvo i ginekologiia.* 2014;(11):29-33 (in Russian)].
9. Власина А.Ю., Идрисова Л.Э., Солопова А.Г., и др. Реабилитация онкогинекологических больных после противоопухолевой терапии: пути решения. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2020;14(1):44-55 [Vlasina AIu, Idrisova LE, Solopova AG, et al. Reabilitatsiia onkoginekologicheskikh bol'nykh posle protivoopukholevoi terapii: puti resheniia. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2020;14(1):44-55 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347.2020.14.1.44-55
10. Солопова А.Г., Табакман Ю.Ю., Идрисова Л.Э., Сдвижков А.М. Реабилитация онкогинекологических больных. Взгляд на проблему. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2015;4:46-54 [Solopova AG, Tabakman IuIu, Idrisova LE, Sdvizhkov AM. Reabilitatsiia onkoginekologicheskikh bol'nykh. Vzgliad na problemu. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2015;4:46-54 (in Russian)].
11. Freedman MA. Perceptions of dyspareunia in postmenopausal women with vulvar and vaginal atrophy: findings from the REVIVE survey. *Womens Health (Lond).* 2014;10(4):445-54. DOI:10.2217/whe.14.29
12. Nappi RE, Palacios S, Panay N, et al. Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. *Climacteric.* 2016;19(2):188-97. DOI:10.3109/13697137.2015.1107039
13. Mac Bride MB, Rhodes DJ, Shuster LT. Vulvovaginal atrophy. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(1):87-94. DOI:10.4065/mcp.2009.0413

14. Lev-Sagie A. Vulvar and Vaginal Atrophy: Physiology, Clinical Presentation, and Treatment Considerations. *Clin Obstet Gynecol.* 2015;58(3):476-91. DOI:10.1097/GRF.0000000000000126
15. Якушевская О.В., Юренева С.В., Протасова А.Е., Шабалова О.В. Альтернативная и комплементарная терапия менопаузальных расстройств после радикального лечения рака молочной железы. *Акушерство и гинекология.* 2021;(5):72-8 [Iakushevskaia OV, Iureneva SV, Protasova AE, Shabalova OV. Al'ternativnaia i komplementarnaia terapiia menopauzal'nykh rasstroistv posle radikal'nogo lecheniia raka molochnoi zhelezy. *Akusherstvo i ginekologiia.* 2021;(5):72-8 (in Russian)].
16. Kim SI, Lee Y, Lim MC, et al. Quality of life and sexuality comparison between sexually active ovarian cancer survivors and healthy women. *J Gynecol Oncol.* 2015;26(2):148-54. DOI:10.3802/jgo.2015.26.2.148
17. Блинов Д.В., Акарачкова Е.С., Ампилогова Д.М., и др. Депрессия у женщин в менопаузе: организация междисциплинарного подхода в лечении и перспективы реабилитации. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2021;15(6):738-54 [Blinov DV, Akarachkova ES, Ampilogova DM, et al. Depressiia u zhenshchin v menopauze: organizatsiia mezhdistsiplinarnogo podkhoda v lechenii i perspektivy reabilitatsii. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2021;15(6):738-54 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.280
18. Bonomi AE, Cella DD, Hahn EA, et al. Multilingual translation of the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) quality of life measurement system. *Qual Life Res.* 1996;5:309-20. DOI:10.1007/BF00433915
19. Власина А.Ю., Солопова А.Г., Сон Е.А., и др. Психоэмоциональное благополучие и сексуальная функция больных пограничными опухолями яичников. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2020;14(5):551-67 [Vlasina AYu, Solopova AG, Son EA, et al. Psycho-emotional well-being and sexual function of patients with borderline ovarian tumors. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2020;14(5):551-67 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.147
20. Wiegel M, Meston C, Rosen R. The female sexual function index (FSFI): cross-validation and development of clinical cutoff scores. *J Sex Marital Ther.* 2005;31(1):1-20. DOI:10.1080/00926230590475206
21. Greimel E, Bottomley A, Cull A, et al. EORTC Quality of Life Group and the Quality of Life Unit An international field study of the reliability and validity of a disease-specific questionnaire module (the QLQ-OV28) in assessing the quality of life of patients with ovarian cancer. *Eur J Cancer.* 2003;39(10):1402-8. DOI:10.1016/s0959-8049(03)00307-1
22. Sinha A, Ewies AA. Non-hormonal topical treatment of vulvovaginal atrophy: an up-to-date overview. *Climacteric.* 2013;16(3):305-12. DOI:10.3109/13697137.2012.756466
23. Edwards D, Panay N. Treating vulvovaginal atrophy/genitourinary syndrome of menopause: how important is vaginal lubricant and moisturizer composition? *Climacteric.* 2016;19(2):151-61. DOI:10.3109/13697137.2015.1124259
24. Herbenick D, Reece M, Hensel D, et al. Association of lubricant use with women's sexual pleasure, sexual satisfaction, and genital symptoms: a prospective daily diary study. *J Sex Med.* 2011;8(1):202-12. DOI:10.1111/j.1743-6109.2010.02067.x
25. Berging EW. Oestriol receptor interactions: their biological importance and therapeutic implications. *Acta Endocrinol.* 1980;233:9-16.
26. Labrie F, Archer DF, Koltun W, et al; VVA Prasterone Research Group Efficacy of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA) on moderate to severe dyspareunia and vaginal dryness, symptoms of vulvovaginal atrophy, and of the genitourinary syndrome of menopause. *Menopause.* 2016;23(3):243-56. DOI:10.1097/GME.0000000000000571
27. Simon JA, Goldstein I, Kim NN, et al. The role of androgens in the treatment of genitourinary syndrome of menopause (GSM): International Society for the Study of Women's Sexual Health (ISSWSH) expert consensus panel review. *Menopause.* 2018;25(7):837-47. DOI:10.1097/GME.0000000000001138
28. Apperloo M, Midden M, van der Stege J, et al. Vaginal application of testosterone: A study on pharmacokinetics and the sexual response in healthy volunteers. *J Sex Med.* 2006;3(3):541-9. DOI:10.1111/j.1743-6109.2006.00212.x
29. Sood R, Faubion SS, Kuhle CL, et al. Prescribing menopausal hormone therapy: an evidence-based approach. *Int J Womens Health.* 2014;6:47-57. DOI:10.2147/IJWH.S38342
30. Cui Y, Zong H, Yan H, et al. The efficacy and safety of ospemifene in treating dyspareunia associated with postmenopausal vulvar and vaginal atrophy: a systematic review and meta-analysis. *J Sex Med.* 2014;11(2):487-97. DOI:10.1111/jsm.12377
31. Preti M, Vieira-Baptista P, Digesu GA, et al. The Clinical Role of LASER for Vulvar and Vaginal Treatments in Gynecology and Female Urology: An ICS/ISSVD Best Practice Consensus Document. *J Low Genit Tract Dis.* 2019;23(2):151-60. DOI:10.1097/LGT.0000000000000462
32. Seland M, Skrede K, Lindemann K, et al. Distress, problems and unmet rehabilitation needs after treatment for gynecological cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2022;101(3):313-22. DOI:10.1111/aogs.14310
33. Weare K. Rehabilitation after gynecological cancer treatment. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015;131(Suppl. 2):S164-6. DOI:10.1016/j.ijgo.2015.06.015
34. Verrilli L, Esposito-Smith M, Williams M. Sexual Health and Function in Menopause and Beyond. In: Brown HW, Williams M, Schrager S. (eds.) Challenges in Older Women's Health. Springer, Cham, 2021. DOI:10.1007/978-3-030-59058-1_12
35. Donnelly CM, Lowe-Strong A, Rankin JP, et al. A focus group study exploring gynecological cancer survivors' experiences and perceptions of participating in a RCT testing the efficacy of a home-based physical activity intervention. *Support Care Cancer.* 2013;21(6):1697-708. DOI:10.1007/s00520-012-1716-0
36. Блбулян Т.А., Солопова А.Г., Иванов А.Е., Куркина Е.И. Влияние послеоперационной реабилитации на качество жизни больных раком вульвы. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2020;14(4):415-25 [Blbulian TA, Solopova AG, Ivanov AE, Kurkina EI. Vliianie posleoperatsionnoi reabilitatsii na kachestvo zhizni bol'nykh rakom vul'vy. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2020;14(4):415-25 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.156
37. Солопова А.Г., Идрисова Л.Э., Макацария А.Д., и др. Мультидисциплинарный подход к медицинской реабилитации онкогинекологических больных. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2017;11(4):57-67 [Solopova AG, Idrisova LE, Makatsariia AD, et al. Mul'tidistsiplinarnyi podkhod k meditsinskoi reabilitatsii onkoginekologicheskikh bol'nykh. *Akusherstvo, Ginekologiia i Reproduktsiia.* 2017;11(4):57-67 (in Russian)]. DOI:10.17749/2313-7347.2017.11.4.057-067
38. Блинов Д.В., Солопова А.Г., Плутницкий А.Н., и др. Организация здравоохранения в сфере реабилитации пациенток с онкологическими заболеваниями репродуктивной системы. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2022;15(1):119-30 [Blinov DV, Solopova AG, Plutnitskiy AN, et al. немного увеличить пробелы, для ориентира: Strengthening health care to provide rehabilitation services for women with cancer diseases of the reproductive system. *Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2022;15(1):119-30 (in Russian)]. DOI:10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2022.132

НОВЫЙ ПОДХОД В ВЕДЕНИИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Н.В. Батрак

Гестационный сахарный диабет (ГСД) - наиболее частое нарушение обмена веществ у беременных женщин. Распространенность ГСД во всем мире неуклонно растет и в общей популяции разных стран достигает 14%, составляя в среднем 7% [1]. Каждый седьмой ребёнок рождается от матери с какой-либо формой гипергликемии во время беременности, при этом 84% случаев впервые выявленного диабета при беременности связаны именно с ГСД [2].

ГСД представляет собой серьёзную медико-социальную проблему, в связи с увеличением частоты осложнений течения и нежелательных исходов беременности, частота которых зависит от срока выявления данного заболевания [3]. Кроме того, у женщин, перенесших ГСД, риск развития сахарного диабета 2 типа в последующие 10-20 лет возрастает до 6 раз [4].

Рост частоты ГСД и связанных с ним осложнений приводит к необходимости выявления факторов риска, приводящих к развитию данного заболевания [5]. Хорошо изученными среди них являются возраст матери, семейный анамнез сахарного диабета, наличие крупного плода в анамнезе, этническая принадлежность, избыточный вес или ожирение, курение сигарет, генетические факторы, вредное воздействие окружающей среды [6].

В дополнение к этим факторам риска, накопленные данные эпидемиологических исследований показывают, что факторы питания и образа жизни, психосоциальное состояние как до, так и во время беременности, связаны с риском развития ГСД [7].

На протяжении многих лет было обнаружено, что ряд факторов питания до беременности в значительной степени связаны с риском развития ГСД. Среди них потенциально вредные факторы включают подслащенные сахаром напитки, употребление гемового железа, жареной пищи, животных жиров и белков, диету с низким содержанием углеводов, а также высокое потребление красного мяса и мясных полуфабрикатов, продуктов из рафинированного зерна, сладостей, картофеля фри и пиццы [6]. Выявлено, что такие диеты, как средиземноморская диета (Mediterranean Diet, MedDiet), диетические подходы к остановке гипертонии (Dietary Approaches to Stop Hypertension, DASH) и диета с альтернативным индексом здорового питания (Alternate Healthy Eating Index diet, AHEI), были связаны со снижением относительного риска ГСД на 15–38% [6].

Исследование физической активности с помощью Международного опросника по физической активности (International physical activity questionnaire (IPAQ-Greek version)) показало, что отсутствие физической активности до и во время беременности связано с повышенным риском развития ГСД на поздних сроках беременности [6]. Физическая активность

до беременности или на ранних сроках беременности ассоциировалась со снижением вероятности ГСД на 30% и 21% соответственно. При этом любая физическая активность более 90 минут в неделю до беременности была связана со снижением вероятности ГСД на 46% [6].

В связи с этим своевременное и адекватное выявление, коррекция модифицируемых факторов риска материнской гипергликемии, нарушений пищевого поведения и психоэмоционального состояния позволит повысить качество жизни женщин и детей [7-10].

Цель исследования - оценить анамнестические данные, качество жизни, психоэмоциональное состояние, пищевое поведение у женщин с ГСД, а также изучить влияние ГСД на акушерские и перинатальные исходы.

Материал и методы

В исследование были включены беременные женщины с ГСД, диагностированным согласно Российскому национальному консенсусу «Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение и послеродовое наблюдение» (№15-4/10/2-9478, 2013). Обследование пациенток проведено на базе женских консультаций г. Иваново. В исследование были включены 92 беременные женщины.

Проводилась оценка профессиональных факторов, акушерско-гинекологического, соматического анамнеза, течения настоящей беременности и перинатальных исходов путем сбора анамнеза, изучения амбулаторных карт, историй родов. Для изучения пищевого поведения использовали опросник DEBQ (Dutch Eating Behavior Questionnaire), для оценки качества жизни использовали анкету SF-36 (The Short Form-36), для оценки психоэмоционального состояния женщин был применен опросник САН (самочувствие, активность, настроение), оценка тревоги и депрессии оценивалась по шкале HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale).

Статистический анализ. Проверка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка и равенства дисперсий, определенного с помощью критерия Левина. Количественное описание величин с нормальным распределением выполнялось с помощью подсчета среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное число и относительную величину в процентах. Статистическая обработка результатов проводилась в пакете программ IBM SPSS Statistics 26.

Результаты

Средний срок выявления ГСД составил 17,7 (9,4) недели беременности. Возраст опрошенных пациенток составил 32, 2 (5,6) лет, а возраст их супругов – 33,2 (5,7) лет. Наиболее частыми неблагоприятными профессиональными факторами были работа за компьютером (48,9%), малоподвижная деятельность (41,3%), нервно-психическое напряжение (25%), ненормированный рабочий день (16,3%), воздействие пыли (11,9%), шума (10,9%), работа в

ночное время (9,8%). При этом продолжительность работы в неблагоприятных условиях составила 6,8 (5,4) лет. Анализ вредных привычек выявил 17,9% женщин, курящих до наступления настоящей беременности и 8,5% опрошенных – во время данной беременности.

Индекс массы тела опрошенных женщин до наступления беременности составил 27,7 (6,2) кг/м^2. Альгодисменорею отмечали 26,4% опрошенных пациенток, предменструальный синдром – 31,5%. Неразвивающаяся беременность в анамнезе наблюдалась у 17,4% пациенток, ранний самопроизвольный выкидыш – у 14,9%, преждевременные роды – у 3,3%. Гестационный сахарный диабет при предыдущих беременностях отмечали 6,4% пациенток, патологическую прибавку массы тела – 12,8%, оперативным родоразрешение было в 14,9% случаев. Рождение крупного плода в анамнезе наблюдалось у 10,8% опрошенных.

Проведена оценка пищевого поведения женщин с гестационным сахарным диабетом с применением опросника DEBQ. Ограничительное пищевое поведение выявлено у 65,2% пациенток, эмоциогенное пищевое поведение – у 31,5%, экстернальное пищевое поведение у 44,6% пациенток. При этом анализируя полученные данные, отмечено наличие разных видов нарушения пищевого поведения у одной пациентки.

Оценка качества жизни с использованием опросника SF-36 выявила снижение уровня психического здоровья (68,7 баллов), физического здоровья (48,9 баллов), психологического здоровья (45,8 баллов).

С применением опросника САН было выявлено снижение уровня самочувствия – 5,4 (1,3) баллов, активности – 4,4 (1,2) балла, настроения – 5,6 (1,1) баллов.

Использование опросника HADS показало наличие субклинической тревоги у 23,1% женщин с гестационным сахарным диабетом, субклинической депрессии – у 9,9%, клинической тревоги – у 3,3%, клинической депрессии – у 4,4% опрошенных.

При оценке течения настоящей беременности отметили наличие угрожающего раннего выкидыша 23,4% беременных с гестационным сахарным диабетом, угрожающего позднего выкидыша – 7,5%, истмико-цервикальной недостаточности – 11,7%, анемии – 29,8%, гестационной артериальной гипертензии – 26,1%, умеренной преэклампсии – 7,6%, тяжелой преэклампсии – 5,4%, эклампсии – 4,3%, плацентарной недостаточности – 32,9%, синдрома задержки роста плода – 19,2%. Преждевременными роды были у 2,2% женщин с гестационным сахарным диабетом, оперативными – у 51,6%. Рождение крупного плода было зафиксировано у 17,4% пациенток, гипергликемия новорожденного – у 7,7%, детей с врожденными пороками развития – у 3,2% пациенток.

Учитывая полученные результаты, с целью профилактики развития ГСД на прегравидарном этапе и во время беременности необходимо проведение коррекции выявленных нарушений (оптимизация условий труда; консультация психолога; рационализация питания);

своевременная профилактика и лечение возникших при беременности осложнений; строгое назначение лекарственных препаратов по показаниям; повышение осведомленности врачей и женщин о необходимости послеродового наблюдения после перенесенного ГСД, в том числе диспансеризация с активным вызовом женщин на прием с целью пересмотра диагноза.

В связи с этим улучшение качества жизни, физического и психологического здоровья может быть достигнуто с помощью различных программ вмешательств путем положительного поведения в отношении контроля, связанного с диабетом. Рекомендуется проведение интеграционных программ, включающих телемедицину и образовательные курсы, улучшающих качество жизни пациентов с ГСД, направленных на обеспечение здорового образа жизни у данной категории женщин, что является основой для успешного лечения заболевания.

Поэтому рациональным решением данного вопроса является организация школ для женщин с гестационным сахарным диабетом, целью которых будет повышение качества жизни, обеспечение психосоциальной поддержки, коррекция расстройств пищевого поведения, обеспечение контроля беременных женщин над своим заболеванием, что будет способствовать снижению частоты осложнений и неблагоприятных акушерских и перинатальных исходов беременности, экономии ресурсов здравоохранения, связанными с негативными сторонами влияния ГСД.

В женских консультациях целесообразно организовать санитарно-просветительную работу и обучение женщин с ГСД по разработанной структурированной программе, включающей общие сведения о заболевании; питании; физической активности; психосоциальной поддержке; качестве жизни; самоконтролю гликемии; инсулинотерапии; послеродовому наблюдению; прегравидарной подготовке к последующей беременности.

Поскольку ГСД является междисциплинарной проблемой, то необходимо привлечение к работе школ врачей акушеров-гинекологов, эндокринологов, нутрициологов, психологов, врачей лечебной физкультуры.

Организация «Школы для беременных женщин с гестационным сахарным диабетом» позволит ликвидировать дефицит знаний пациентов об имеющемся заболевании, контролировать состояние своего здоровья, будет способствовать достижению компенсации обмена веществ, что приведет к снижению уровня осложнений беременности и улучшению ее исходов. Повышение информированности пациентов как результат обучения создаст предпосылки для более активного их участия в процессе лечения, а реализация обучающих программ с участием акушеров-гинекологов и смежных специалистов позволит оптимизировать работу акушерско-гинекологической и эндокринологической службы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухих Г.Т., Ход М. На пути к Европейскому консенсусу по гестационному сахарному диабету: Рациональное руководство по обследованию, лечению и уходу. Акушерство и гинекология. 2017; 4: 5-12. http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.4.5-12

2. Сибирская Е.В., Блинникова Е.С. Сахарный диабет и беременность (обзор литературы). Российский журнал репродукции человека. 2020; 26 (6): 122-130. https://doi.org/10.17116/repro202026061122

3. Герасимов А.М., Батрак Н.В. Влияние гипотиреоза и избыточной массы тела беременных на течение гестационного периода, рождение крупного плода и функциональное состояние его щитовидной железы. Вестник Ивановской медицинской академии. 2013; 18 (1): 39-42.

4. Аксенов А.Н., Бочарова И.И., Башакин Н.Ф., Троицкая М.В., Якубина А.А., Букина М.Ю., Бурумкулова Ф.Ф., Гурьева В.М. Особенности ранней постнатальной адаптации и ведения новорожденных, родившихся у матерей с гестационным сахарным диабетом. Российский вестник акушера-гинеколога. 2015; 4: 75-80. https://doi.org/10.17116/rosakush201515475-80

5. Лысенко С.Н., Чечнева М.А., Петрухин В.А., Бурумкулова Ф.Ф. Оценка степени тяжести диабетической фетопатии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2020; 20(1): 61-67. http://doi.org/10.17116/rosakush20202001161

6. Батрак Н.В., Малышкина А.И., Ткаченко А.С. Оценка качества жизни, психоэмоционального состояния, пищевого поведения, акушерских и перинатальных исходов у беременных с ранним и поздним выявлением гестационного сахарного диабета. Акушерство и гинекология. 2023; 2: 64-70. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.230

7. Малышкина А.И., Афонина В.А., Батрак Н.В. Факторы риска развития гестационного сахарного диабета при угрозе позднего невынашивания беременности во втором триместре гестации. Вестник Ивановской медицинской академии. 2023; 28 (3): 10-17. https://doi.org/10.52246/1606-8157_2023_28_3_10

8. Афонина В.А., Батрак Н.В., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю. Взаимосвязь липидного обмена и инсулинорезистентности при гестационном сахарном диабете. Акушерство и гинекология. 2022; 7: 13-20. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.7.13-20

9. Малышкина А.И., Батрак Н.В., Афонина В.А. Оценка пищевых привычек, психоэмоционального состояния, качества жизни и факторов риска развития гестационного сахарного диабета у женщин с угрозой позднего невынашивания беременности. Российский вестник акушера-гинеколога. 2023; 23 (6-2): 155-161. https://doi.org/10.17116/rosakush202323062155

10. Плеханова М.А., Бурумкулова Ф.Ф., Петрухин В.А., Овчинникова В.В. Факторы риска развития впервые выявленной гипергликемии во время беременности. Российский вестник акушера-гинеколога. 2022; 22(1): 74-80. https://doi.org/10.17116/rosakush20222201174

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ И КОМПЛЕКСНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Ё. Бегович[1], А.Г. Солопова[1], В.О. Бицадзе[1], С.В. Хлопкова[2]., Е.А. Сон[1], Х.З. Ширин[1]

[1]ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр.4

[2]ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 имени Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы»; Россия, 123423 Москва, ул. Саляма-Адиля, д. 2/44

Для контактов: Антонина Григорьевна Солопова, e-mail: antoninasolopova@yandex.ru

Резюме

Введение. Хроническая тазовая боль негативно отражается на качестве жизни (КЖ) пациенток с болевой формой наружного генитального эндометриоза (НГЭ) и неблагоприятно влияет на физическое, психоэмоциональное и сексуальное здоровье женщин репродуктивного возраста, приводя к дистрессу, дезадаптации, тревожно-депрессивным расстройствам, нарушению социального функционирования и семейных отношений.

Цель исследования: провести интегральную оценку КЖ женщин с болевой формой НГЭ после радикального лечения в реабилитационном периоде.

Материалы и методы. Обследовано 104 пациентки репродуктивного возраста 42,4 ± 3,7 лет, с болевой формой НГЭ после радикального лечения: группа IA - 49 женщин с проведением «активной» реабилитации, группа IБ – 55 пациенток с «пассивной» реабилитационной тактикой в соответствии со стандартами и Национальными клиническими рекомендациями. Была проведена интегральная оценка КЖ (субъективная) с помощью специализированных опросников: визуальная аналоговая шкала (ВАШ), анкета по боли Pain DETECT, опросник профиля здоровья больных эндометриозом (англ. Endometriosis Health Profile-30, EHP-30), госпитальная шкала тревоги и депрессии (англ. Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS), индекс женской сексуальной функции (англ. Female Sexual Function Index, FSFI), а также (объективная) при помощи клинико-лабораторных (раковый антиген – 125 (англ. Cancer antigen-125, CA-125), раковый антиген – 19.9 (англ. Cancer antigen-19.9, CA-19.9), интерлейкин – 6, ИЛ-6, (англ. Interleukin-6, IL-6), фактор некроза опухоли, ФНО, (англ. tumor necrosis factor, TNF), фемофлор – 16, pH – метрия) и инструментальных исследований (ультразвуковая диагностика (УЗИ), магнитно-резонансная томография (МРТ)). Оценка показателей КЖ была проведена в 6 контрольных точках: до, через 5-9 дней, 1,3,6 и 12 мес после оперативного лечения.

Результаты. У пациенток с «активной» реабилитационной тактикой (группа IA) отмечалось существенное снижение болевого синдрома, нейропатического компонента боли, уменьшение тревожно-депрессивных расстройств, нормализация сексуальной функции и улучшение всех показателей КЖ, в отличие от больных с «пассивной» тактикой, которым был проведен комплекс реабилитационных мероприятий в рамках Национальных клинических рекомендаций (группа IБ). Было отмечено достоверное снижение КЖ у пациенток с болевой формой НГЭ и «пассивной» тактикой ведения реабилитационного периода.

Заключение. Использование комплексной персонифицированной реабилитации с мультидисциплинарным подходом у пациенток с болевой формой НГЭ после радикального лечения, способно значительно улучшить общее самочувствие, своевременно скорректировать психоэмоциональную и сексуальную дисфункцию, а следовательно, значительно повысить КЖ больных.

Ключевые слова*:* наружный генитальный эндометриоз, НГЭ, хронический болевой синдром, качество жизни, КЖ, реабилитация.

Для цитирования: Бегович Ё., Солопова А.Г., Бицадзе В.О., Хлопкова С.В., Сон Е.А., Ширин Х.З. Оценка качества жизни и комплексной реабилитации больных с наружным генитальным эндометриозом.

Введение

Все больше внимания медицинского сообщества уделяется улучшению КЖ пациенток с хроническим болевым синдромом, который встречается в 65-80% случаев при диагнозе НГЭ. [1,2]. Согласно последним данным Министерства здравоохранения в Российской Федерации НГЭ страдают 3,3 млн. женщин, в то время как во всем мире это число составляет 176 млн, а это примерно 10% пациенток репродуктивного возраста [3, 4, 5].

Имеются немногочисленные данные о том, что хронический болевой синдром приводит к психологической дезадаптации [6], которая играет ключевую роль в нарушении общего самочувствия, психоэмоционального и сексуального функционирования женщин репродуктивного возраста, негативно влияя на аспекты социальной и профессиональной деятельности и, как следствие, приводит к ухудшению КЖ таких больных [1,7].

В связи с этим, такие пациентки нуждаются в проведении своевременной оценки КЖ, а также разработке модели комплексной реабилитации, направленной на коррекцию дисфункций и раннее выявление рецидивов заболевания, придерживаясь

персонифицированного подхода [8, 9, 10, 11]. Однако, необходимо отметить, что у 30-50% больных НГЭ может протекать без симптомов хронической тазовой боли (ХТБ) [12].

Цель: проведение интегральной оценки КЖ женщин с болевой формой НГЭ после радикального лечения и комплекса реабилитационных мероприятий.

Материалы и методы

Работа была проведена на базе кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет) ГБУЗ «ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ». В проспективное сравнительное рандомизированное интервенционное исследование вошли 104 пациентки с подтвержденным диагнозом НГЭ, по данным лапароскопии и гистологии. Возраст варьировал от 18 до 50 (42,4 ± 3,7) лет.

Критерии включения и исключения / Inclusion and exclusion criteria

Критерии включения: возраст от 18 до 50 лет включительно; проведенное оперативное (радикальное) лечение, хирургически и морфологически верифицированный диагноз «наружный генитальный эндометриоз»; наличие добровольного письменно оформленного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения: возраст менее 18 и более 50 лет; наличие сопутствующей патологии (экстрагенитальные заболевания в стадии обострения, онкологические процессы любой локализации); психические расстройства и выраженные когнитивные нарушения, влияющие на комплаентность; отказ от участия в исследовании.

Дизайн исследования / Study design

Всем женщинам с болевой формой НГЭ до оперативного лечения было предложено участие в исследовании оценки КЖ. При первом посещении врача-гинеколога (визит 0), после получения добровольного письменного информированного согласия, пациентки проходили опрос, гинекологический осмотр, клинико-лабораторное (СА-125, СА-19.9, ИЛ-6, ФНО, фемофлор-16, pH-метрия) и инструментальное исследование (УЗИ, МРТ) и самостоятельное заполнение анкет-опросников: 1) визуальная аналоговая шкала (ВАШ); 2) анкета по боли PainDETECT; 3) опросник профиля здоровья больных эндометриозом (англ. Endometriosis Health Profile-30, EHP-30); 4) госпитальная шкала тревоги и депрессии (англ. Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS); 5) индекс женской сексуальной функции (англ. Female Sexual Function Index, FSFI). В соответствии с критериями включения и исключения пациентки были определены в группу с болевой формой НГЭ (I). Всем пациенткам было проведено радикальное хирургическое лечение в объеме пангистерэктомии с придатками (n=95) и двухсторонней оофорэктомии (n=9) с удалением очагов НГЭ. Выбор вида хирургического лечения у больных обусловлен стадией

заболевания, неоднократным оперативным вмешательством в анамнезе по поводу НГЭ, выраженным болевым синдромом, наличием спаечного процесса и нарушения функции смежных органов. В связи с ранними проявлениями постовариоэктомического синдрома (ПОЭС) при хирургической менопаузе, на этапе планирования лечения, нами было решено внедрить пререабилитационные мероприятия для минимизации негативных последствий после радикальной операции. После гистологической верификации диагноза, был осуществлен анализ предикторов, ухудшающих КЖ, и на его основании, персонифицировано для каждой больной, мультидисциплинарной командой специалистов, включающей акушер-гинеколога, реабилитолога, сексолога, психиатра, психолога, диетолога, врача восстановительной и реабилитационной медицины, физиотерапевта и др., был разработан патогенетически обоснованный 12-ти месячный комплекс реабилитации, с возможным изменением сроков восстановительного лечения. Дизайн исследования представлен на **рисунках 1 и 2**.

Участницы исследования были рандомизированы на 2 группы с помощью метода закрытых конвертов. Больные, которые отказались от «активной» реабилитации, попадали в группу «пассивной». Окончательно решение об участии в исследовании принималось самостоятельно и осознано, исходя из заинтересованности пациентки в улучшении своего КЖ. Таким образом, были сформированы группы: IA - 49 пациенток с болевой формой НГЭ, и проведением комплекса персонифицированной «активной» реабилитации в сочетании с назначениями, соответствующими стандартам Национальных клинических рекомендаций [4]; IБ – 55 женщин с болевой формой НГЭ, и проведением комплекса «пассивной» реабилтации в рамках Национальных клинических рекомендаций [4]. Клиническое обследование больных с болевой формой НГЭ и оценка показателей КЖ (субъективная и объективная) проведена в динамике в 6 контрольных точках: до оперативного лечения (визит 0), после хирургического вмешательства (5-9 день), через 1, 3, 6 и 12 мес. (визиты 1, 2, 3, 4 и 5, соответственно).

Рисунок 1. Дизайн I этапа исследования: интегральная оценка качества жизни больных с наружной формой генитального эндометриоза

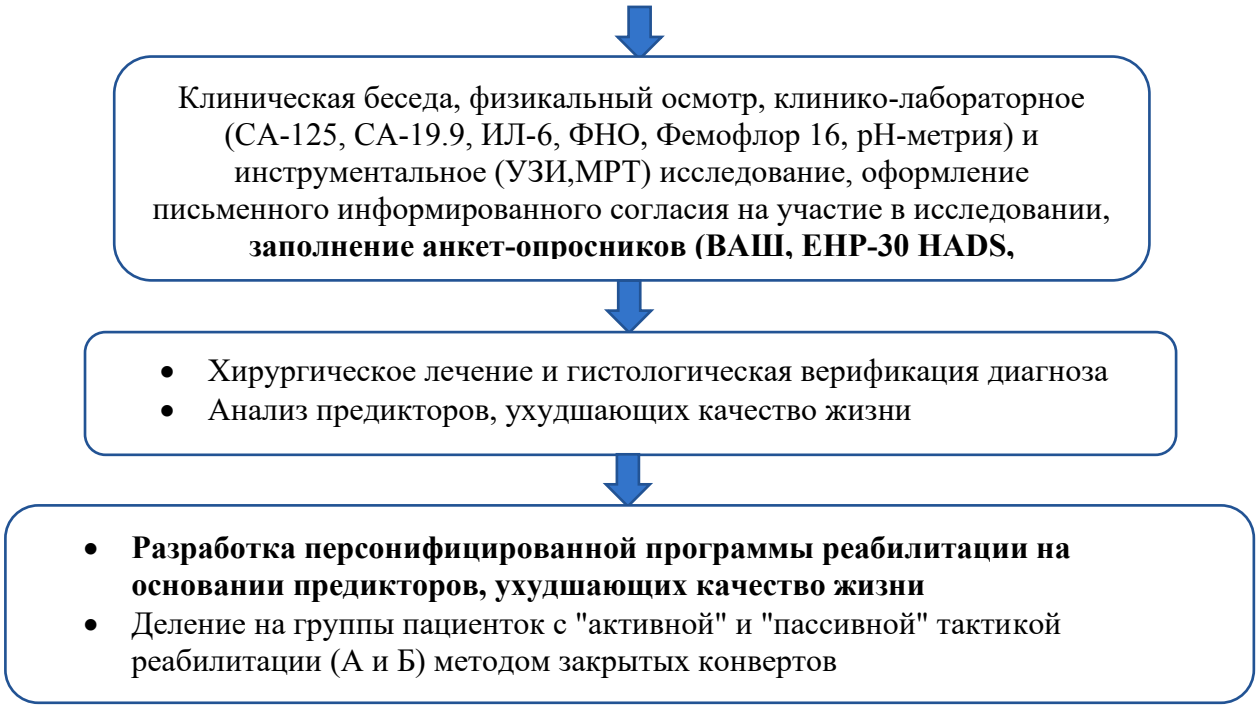
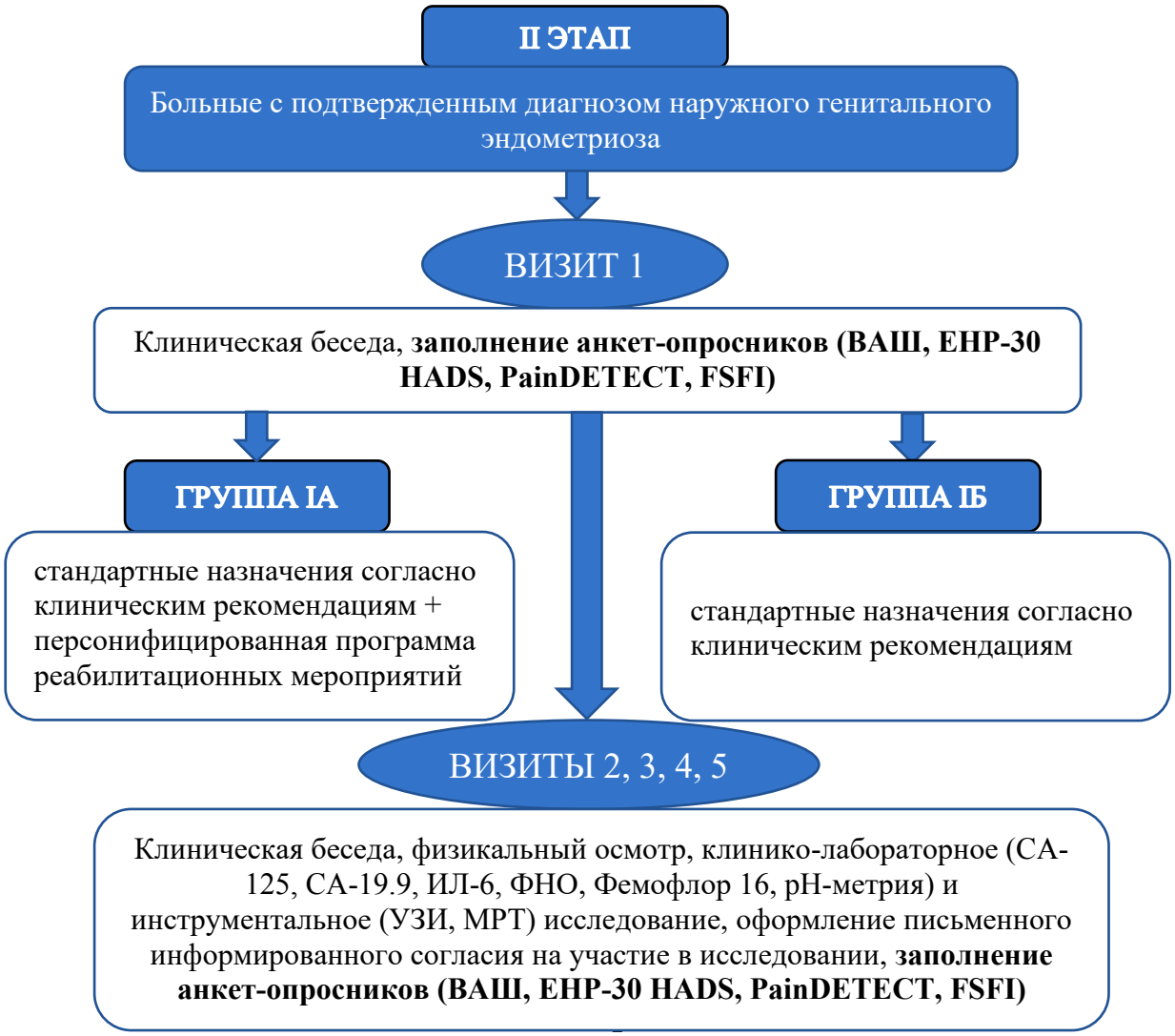
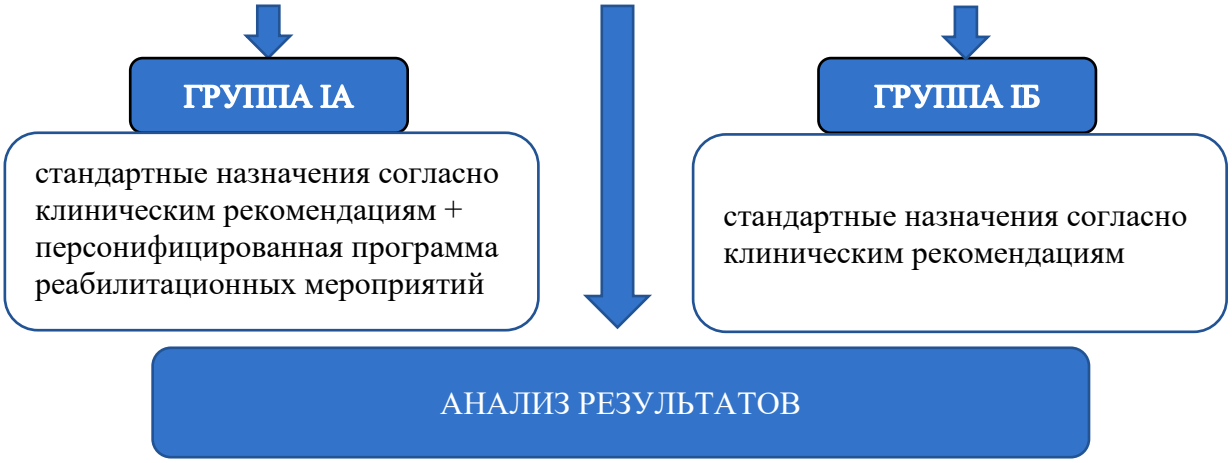


Рисунок 2. Дизайн II этапа исследования: мониторинг эффективности персонифицированной программы комплексной реабилитации у пациенток с наружным генитальным эндометриозом





Программа комплексной реабилитации /Comprehensive Rehabilitation Program

Для участниц группы IA программа «активной» реабилитации составляла такие обязательные компоненты как: модификация образа жизни (рациональное питание, физическая активность, коррекция микробиоты), информационная поддержка, ведение дневника самоконтроля, психотерапия с индивидуальным и/или групповым подходом, консультация сексопатолога, фитотерапия, физиотерапия (медицинский массаж, лечебно-физическая культура (ЛФК), ксенонтерапия, магнитотерапия, ударно-волновая терапия (УВТ), крайне высокочастотная терапия (КВЧ), электросон), климато- и ландшафтотерапия, радоновая бальнеотерапия. Основная часть восстановительных процедур была проведена на базах санаторно-курортного лечения и реабилитационных центров.

Опросники и шкалы / Questionnaires and Scales

1. Визуальная аналоговая шкала / Visual analogue scale

Для определения выраженности болевого синдрома была использована шкала ВАШ, где на отрезке прямой длины, равной 10 см, больной необходимо отметить ту цифру, , которая, по ее мнению, соответствует степени выраженности испытываемой боли, где 0 – «отсутствие боли» и 10 – «нестерпимая боль».

2. Опросник по боли PainDETECT / PainDETECT screening questionnaire

Опросник представляет собой комплексную систему оценки болевого синдрома, с рисунками, для указания локализации и характеристик болевых ощущений. Диапазон баллов составляет от 1 до 38, где результат ≥19 указывает на присутствие нейропатического компонента боли с вероятностью 90%, а ≤12 указывает на наличие ноцицептивной боли, баллы 13-18 считаются переходными.

3. Профиль здоровья больных эндометриозом-30/ Endometriosis Health Profile-30

Данный опросник представляет собой 30 пунктов, включающих такие аспекты, как боль, жизненный тонус, эмоциональное благополучие, социальное взаимодействие, самооценка, работа, отношения с детьми и медицинским персоналом, сексуальная жизнь, бесплодие, удовлетворенность лечением. Женщины выбирают свой ответ по пятибалльной шкале Лайкерта, где 0 – никогда, 1– редко, 2 – иногда, 3 – часто, 4 – всегда. Таким образом, 0 баллов – наилучший вероятный статус здоровья, 100 – наихудший вероятный статус здоровья. После чего все баллы суммируются и вычисляются по формуле 0*n1+1*n2+2*n3+3*n4+4*n5, где n – это количество пациентов, отметивших это состояние для данного вопроса.

4. Госпитальная шкала тревоги и депрессии / Hospital Anxiety and Depression Scale

При помощи шкалы HADS был оценен уровень тревожно-депрессивных расстройств: она состоит из 2 частей, по 7 вопросов и 4-х вариантов ответа, соответствующих каждому утверждению шкалы. Пациентки выбирают тот вариант, который в наибольшей степени характеризует их состояние в течение последних 7 дней. Затем баллы суммируются отдельно для каждой части: 0–7 баллов – норма; 8–10 баллов – «субклинически выраженная тревога/депрессия»; 11–21 балл – «клинически выраженная тревога/депрессия».

5. Индекс женской сексуальной функции / Female Sexual Function Index

Данный опросник предусматривает оценку сексуальной функции за последний месяц и состоит из 19 вопросов, касающихся таких областей как: половое влечение, возбуждение, лубрикация, удовлетворение, боль и дискомфорт при половом акте, частота и интенсивность оргазма. Каждый ответ оценивается в баллах: максимальная оценка– 36 баллов, минимальная – 2 балла. Снижение индекса ниже 26,55 свидетельствует о сексуальной дисфункции.

Оценка анкет-опросников была проведена в соответствии с их инструкциями и методическими рекомендациями.

Этические аспекты / Ethical aspects

Дизайн исследования утвержден локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), протокол № 01-21 от 22.01.2021. Все участницы были поставлены в известность о характере своего заболевания, а также дали письменное добровольное информированное согласие о включении в научное исследование. Все манипуляции, проведенные в рамках научной работы, соответствовали этическим нормам и стандартам Хельсинкской декларации 1964 г., а также ее последующим изменениям.

Статистический анализ / Statistical analysis

Для статистической обработки данных применяли программу Microsoft® Excel® 2016 (Microsoft, США). Были оценены средние значения показателей (M) и стандартные ошибки (m). Нормальное распределение признаков было получено на объеме выборки, таким образом, были применены методы параметрической статистики: критерий Стьюдента использован для анализа гипотез о значимости различий, при статистическом уровне вероятности различий $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

После проведения интегральной оценки КЖ (субъективной и объективной), были получены данные о значительных болевых ощущениях и дискомфорте в области малого таза, а также снижении психоэмоциональной и сексуальной сферы жизни у всех участниц исследования (n=104).

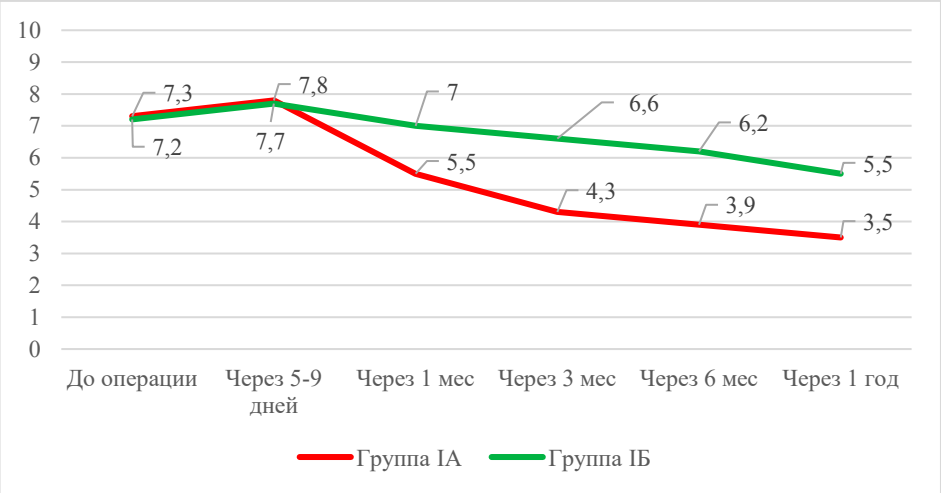
Субъективная оценка КЖ/ Subjective assessment of the QoL

Визуальная аналоговая шкала / Visual analogue scale

Согласно полученным результатам, на 5-9-е сутки послеоперационного периода по сравнению с данными до начала лечения, все участницы исследования отмечали нарастание выраженности болевого синдрома по ВАШ.

После проведения реабилитационных мероприятий, отмечалось значительное уменьшение болевого синдрома в группе «активной» реабилитации (IA), по сравнению с «пассивной» (IБ), которое статистически значимо различалось ($p < 0,01$) и составляло 3,8 и 2,2 балла в течение 12 мес проводимого лечения. Таким образом, значительная положительная динамика выраженности боли была отмечена у больных IA «активных» реабилитационных мероприятий по сравнению с пациентками, проходящими программу послеоперационной реабилитации в рамках Национальных клинических рекомендаций **(рис. 3).**

Рисунок 3. График оценки интенсивности болевого синдрома у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза по визуальной аналоговой шкале в зависимости от программы реабилитации

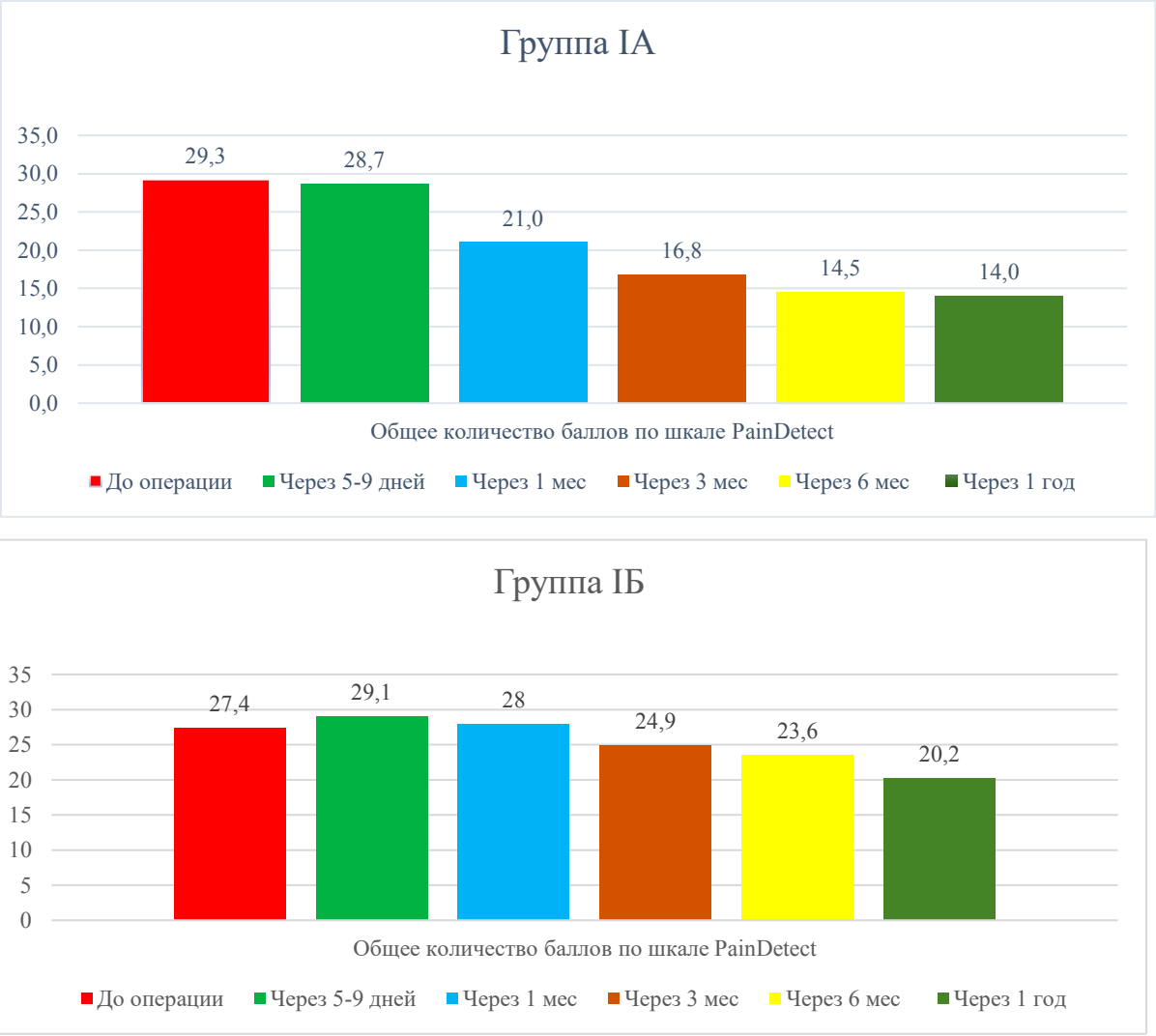


Опросник по боли PainDETECT / PainDETECT screening questionnaire

Нейропатический компонент боли, а также характер и интенсивность болевых ощущений, были оценены до и после лечения при помощи шкалы PainDETECT.

Существенное снижение болевого синдрома в течение 12 мес наблюдалось у пациенток групп «активной» (IA) по сравнению с женщинами групп «пассивной» (IБ) реабилитации **(рис. 4).** Статистически значимое снижение ($p < 0,01$) силы и интенсивности нейропатического компонента боли при болевой форме НГЭ было отмечено в группе IA «активной» в отличие от IБ «пассивной» реабилитации.

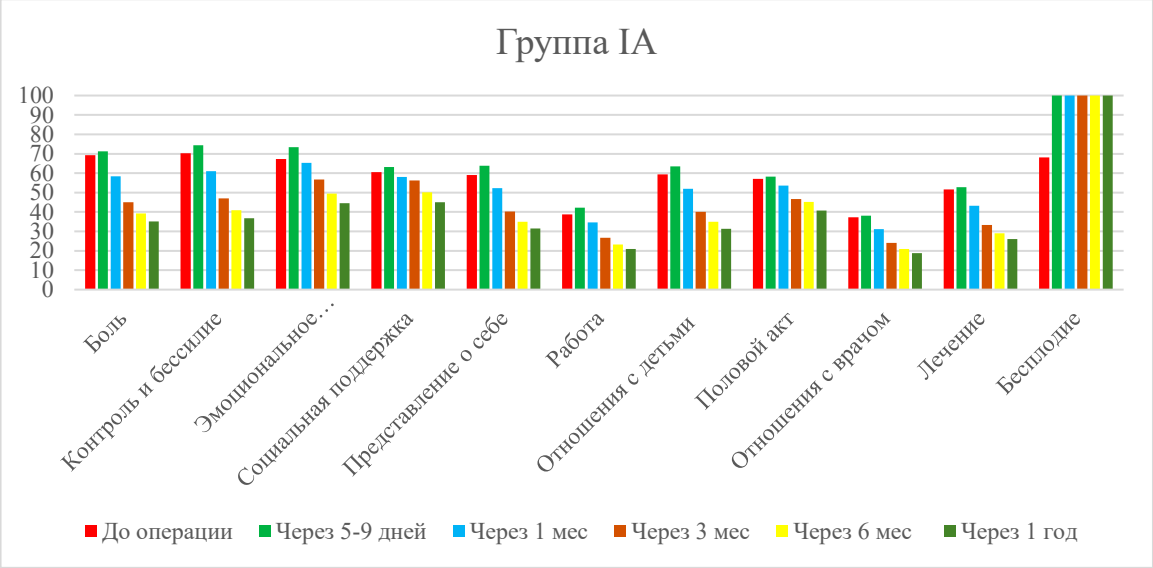
Рисунок 4. Диаграмма оценки нейропатического компонента боли у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза по шкале PainDETECT в зависимости от программы реабилитации

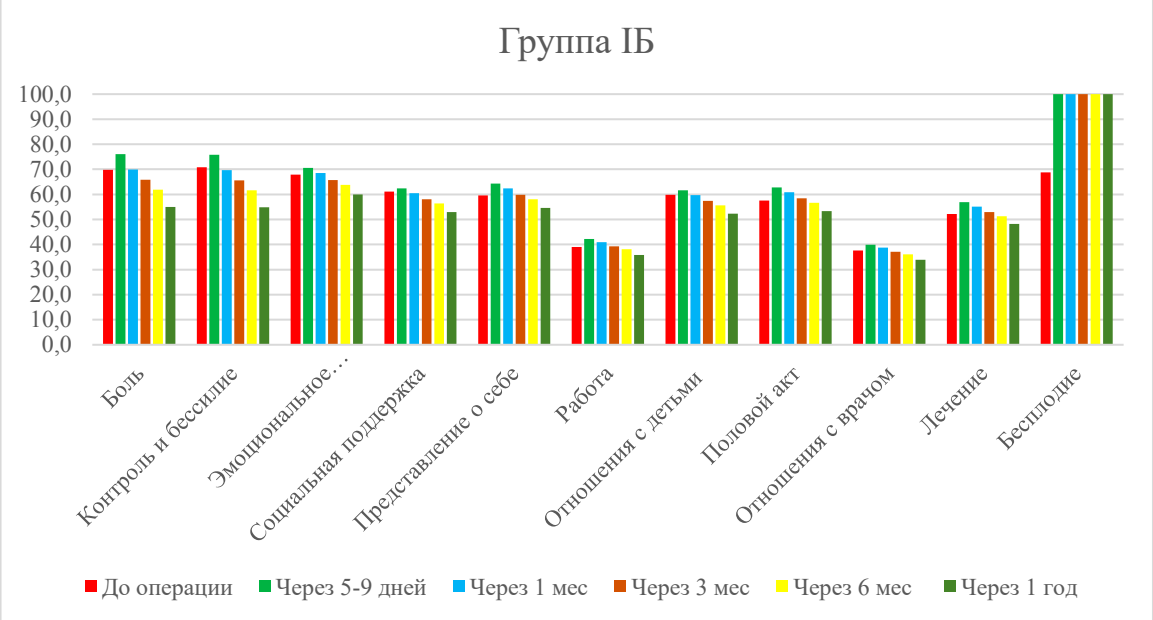


Профиль здоровья больных эндометриозом-30/ Endometriosis Health Profile-30

В рамках текущего исследования выявлено выраженное улучшение всех категорий КЖ в течение 12 мес у женщин групп IA «активной» по сравнению с пациентками групп IБ «пассивной» реабилитации. Также была отмечена статистически значимая положительная динамика ($p < 0,01$) общего самочувствия, физического, психосоциального, сексуального и эмоционального благополучия у пациенток с болевой формой НГЭ в группе IA («активной» реабилитации) в отличие от больных группы IБ («пассивной» реабилитации) **(рис. 5)**.

Рисунок 5. Диаграмма оценки качества жизни у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза по шкале EHP-30



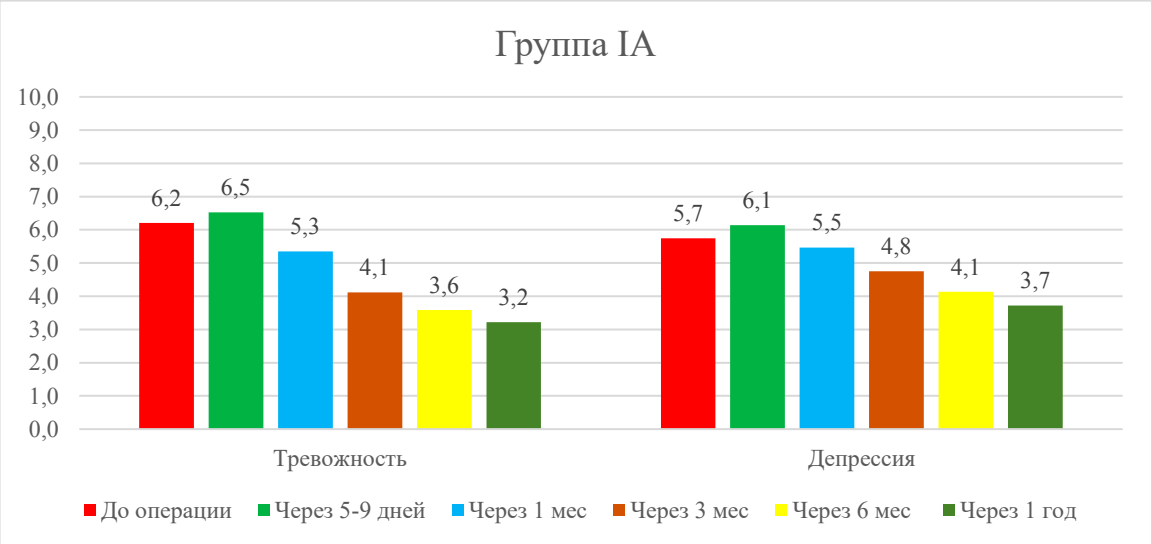


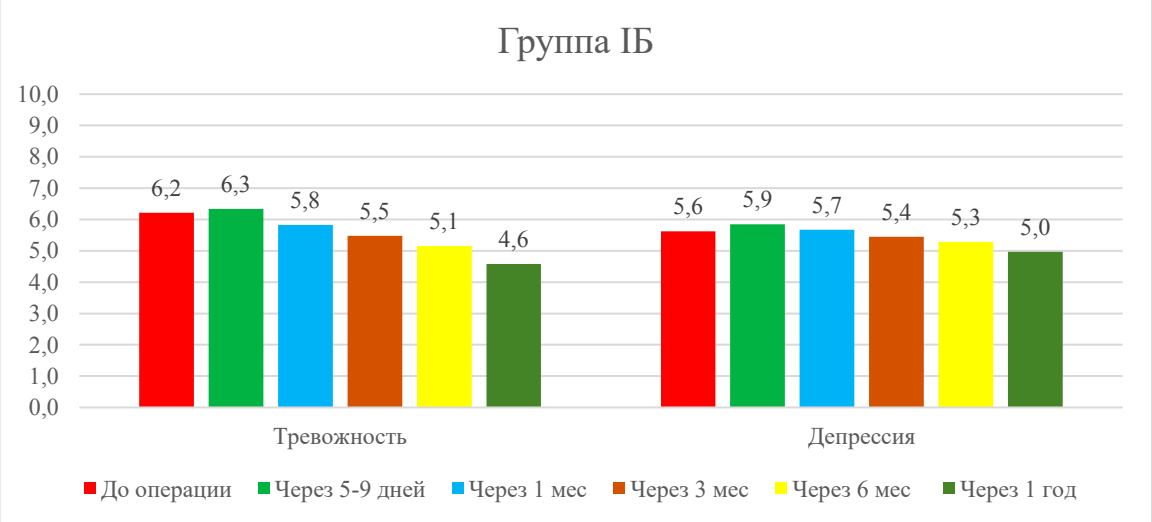
Госпитальная шкала тревоги и депрессии / Hospital Anxiety and Depression Scale

Результаты проведенного нами исследования показали существенное улучшение показателей у больных групп IA по сравнению с пациентками групп IБ **(рис. 6).**

У пациенток с болевой формой НГЭ IA «активной» и IБ «пассивной» реабилитации отмечалось значимое ($p < 0,01$) снижение депрессивных состояний, которое составило разницу в 3,0 и 1,6 балла по уровню тревожности и 2,0 и 0,6 балла по показателям депрессии, в течение 12 мес лечения.

Рисунок 6. Диаграмма оценки уровня тревожности и депрессии у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза по шкале HADS





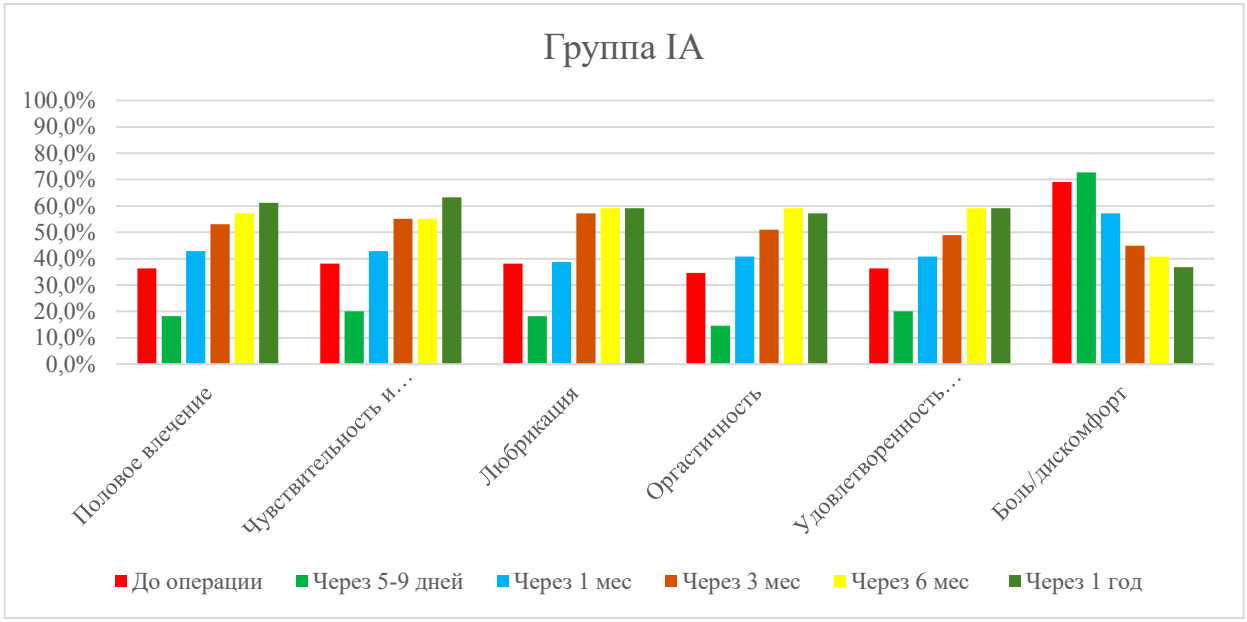
Индекс женской сексуальной функции / Female Sexual Function Index

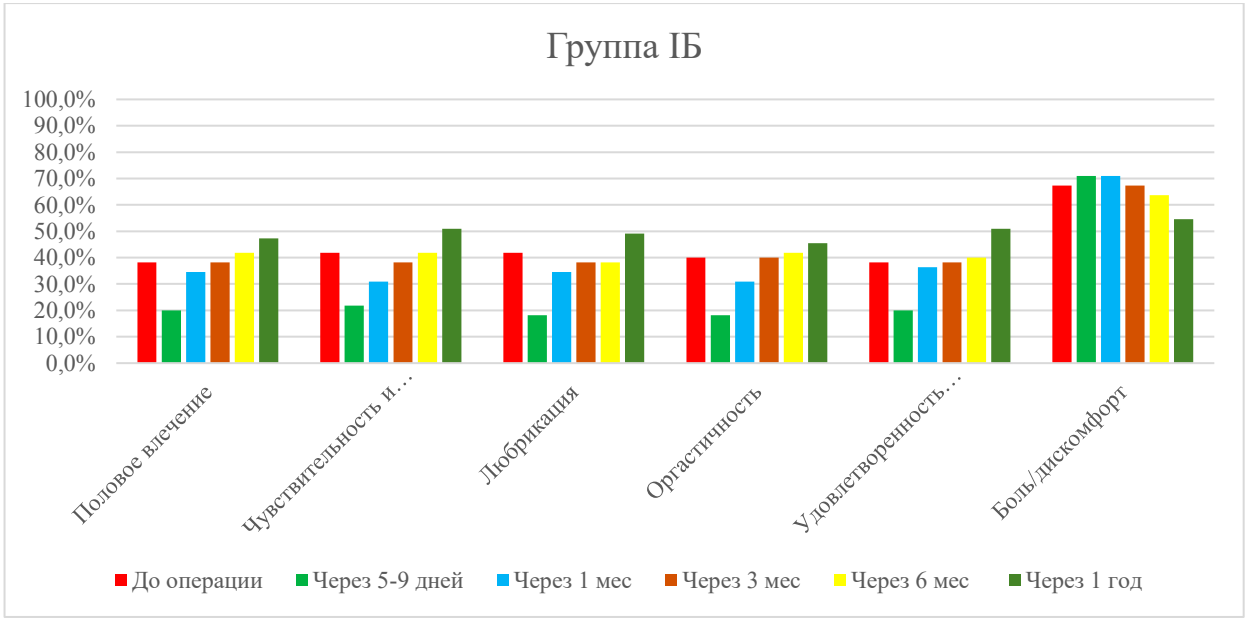
У пациенток с болевой формой НГЭ в группах IA «активной» и IБ «пассивной» реабилитации, при сравнительной оценке результатов во время визита 0 (до операции), реабилитации выявлено существенное нарушение сексуальной функции ($p < 0,01$). Таким образом, нами был рассчитан процентный показатель женщин с указанием результатов выше и ниже среднего балла по данным анкеты FSFI **(рис. 7)**.

В группе «активной» реабилитации отмечено значительное улучшение семейных и сексуальных отношений, эмоционального благополучия, и, как следствие, уровня

сексуальной функции по сравнению с пациентками групп «пассивной» реабилитации, где динамика оказалась менее выраженной.

Рисунок 7. Диаграмма оценки индекса женской сексуальной функции у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза в зависимости от программы реабилитации



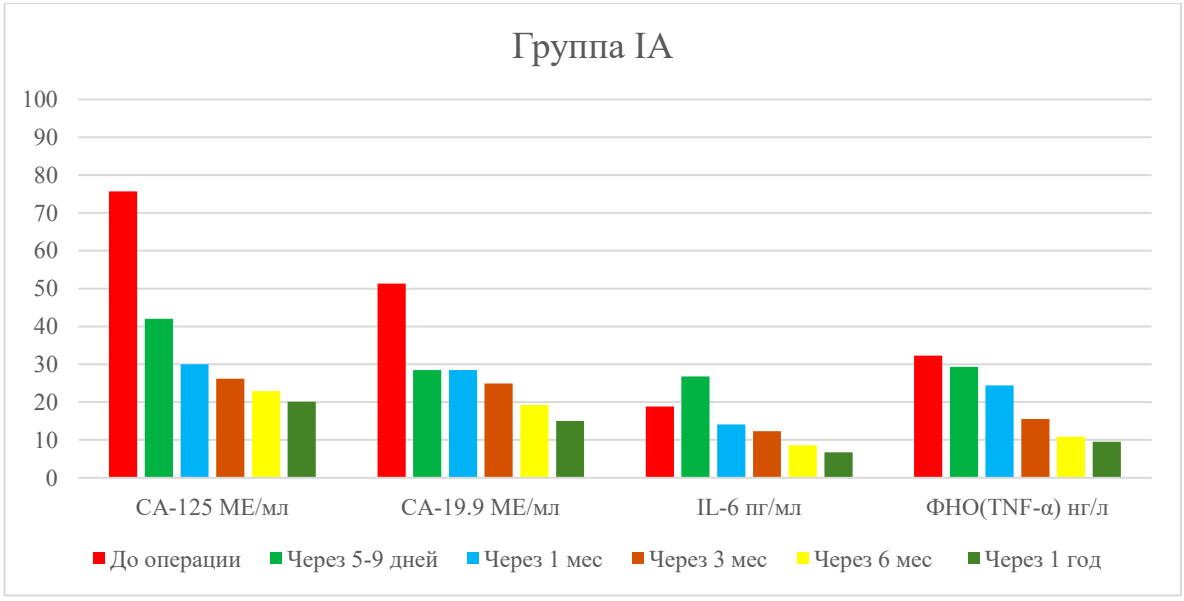


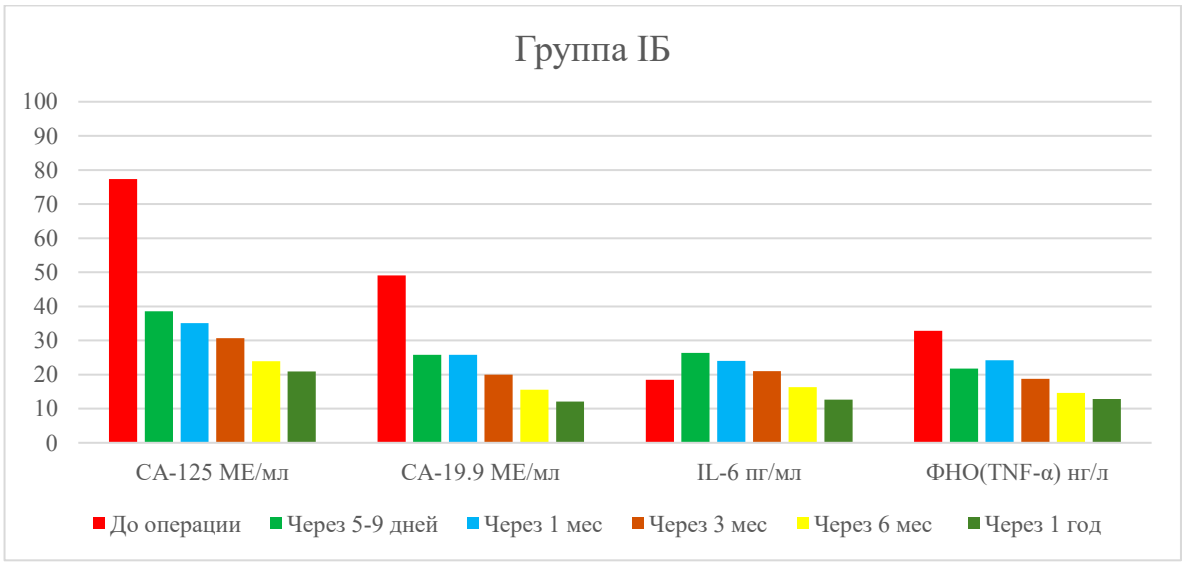
Объективная оценка КЖ/ Objective assessment of the QoL

Биохимические маркеры СА-125, СА-19.9, ИЛ-6, ФНО/ Biochemical markers CA-125, CA-19.9, IL-6, TNF

При сравнительной оценке результатов биохимических маркеров во время визита 0 (до операции), выявлено, что у пациенток в группе IA «активной» реабилитации, отмечается значительное снижение показателей биомаркеров ($p < 0,01$), в то время как у больных с IБ «пассивной» реабилитации оно ($p < 0,05$) было менее выраженным **(рис. 8).** Также было отмечено, что уровень IL-6 повышался у пациенток всех групп (IA, IБ) на 5-9 день после хирургического лечения, что свидетельствует о наличии воспалительного процесса в послеоперационном периоде **(рис. 8).**

Рисунок 8. Диаграмма оценки биохимических маркеров СА-125, СА-19.9, IL-6, ФНО у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза в зависимости от программы реабилитации



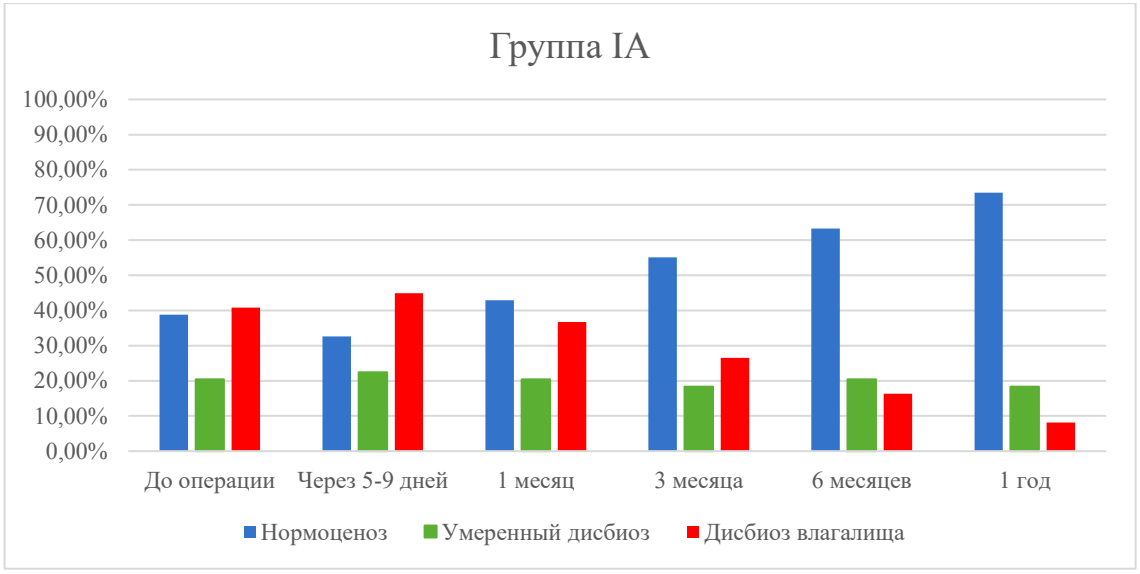


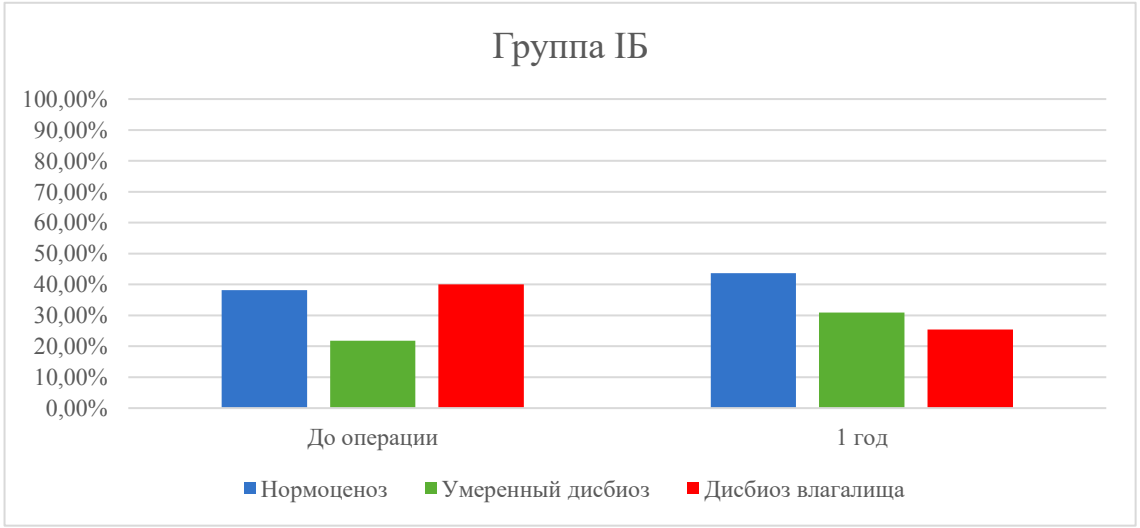
Фемофлор-16/ Femoflor-16

При сравнительном анализе результатов, полученных по данным оценки микробиоты урогенитального тракта, до оперативного вмешательства у пациенток всех групп (IA, IБ) наблюдался дисбиоз влагалища. После лечения у больных группы IA «активной» реабилитации отмечалось выраженное улучшение ($p < 0,01$) микробиоты урогенитального тракта, которое соответствовало нормоценозу, по сравнению с больными групп IБ пассивной» реабилитации ($p < 0,05$), у которых положительный эффект оказался менее выраженным **(рис. 9).**

Пациенткам групп «пассивной» реабилитации IБ не была проведена оценка микробиоты урогенитального тракта на 5-9 день и через 1,3,6 месяцев, в связи с тем, что данная процедура является дорогостоящей и не входит в программу ОМС.

Рисунок 9. Диаграмма оценки микробиоты урогенитального тракта (Фемофлор-16) у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза

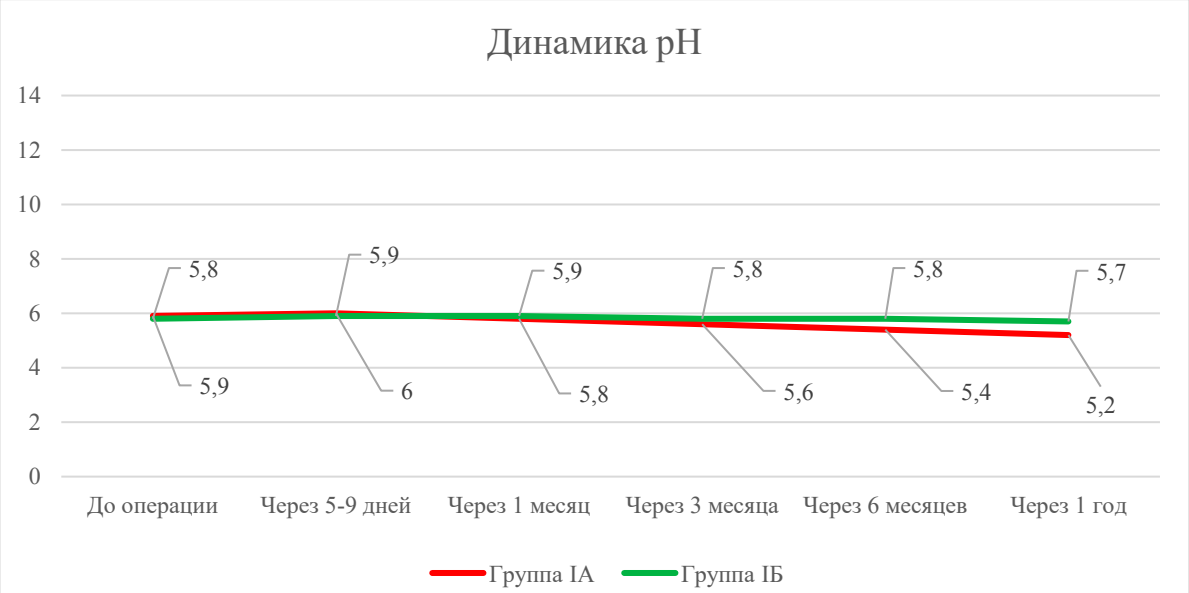




pH-метрия/ pH-metric tiration

Также всем участницам исследования была проведена pH-метрия, которая показала, что у пациенток всех групп «активной» и «пассивной» реабилитации IA, IБ до оперативного лечения pH составлял значения равные слабокислой среде. При оценке pH-метрии после лечения у больных «активной» реабилитации (IA) отмечалось изменение показателей pH в кислую сторону ($p < 0,01$), в то время как у женщин «пассивной» реабилитации (IБ) уровень pH снизился на 0,1 единицу ($p < 0,05$) **(рис. 10).**

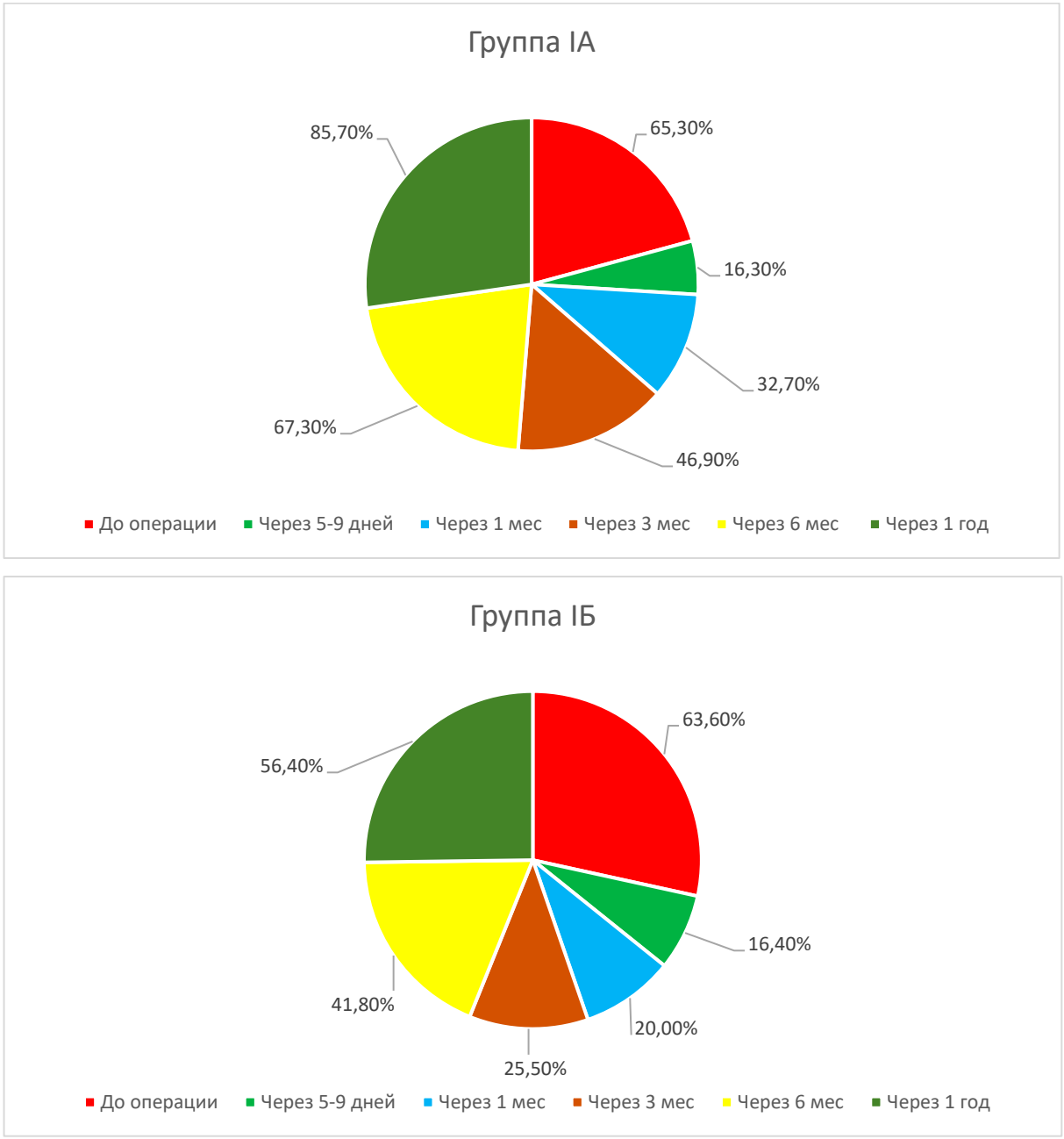
Рисунок 10. График pH-метрии у женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза



Возвращение к труду/ Return to work

Также нами был рассчитан показатель возвращения к труду пациенток с болевой формой НГЭ «активной» и «пассивной» тактикой реабилитационного периода. При сравнительном анализе результатов, отмечалось более быстрое возвращение к труду уже после 1 мес. проводимого лечения у больных с ведением «активной» реабилитационной тактики (IA), по сравнению с группой «пассивной» реабилитации (IБ) ($p < 0,01$) **(рис. 11).**

Рисунок 11. Диаграмма возвращения к труду женщин с болевой формой наружного генитального эндометриоза



Учитывая высокую распространенность заболевания среди женщин репродуктивного возраста, дорогостоящее лечение и реабилитацию, существенное снижение КЖ, данную проблему необходимо рассматривать не только с медицинской точки зрения, а также с экономической и социальной позиции.

К сожалению, в РФ реабилитационные мероприятия должным образом не соответствуют необходимым требования тактики ведения больных с НГЭ, а также еще не внедрены на официальном уровне в системе здравоохранения. Таким образом, необходимо укреплять государственную политику в области реабилитации, а также создавать

реабилитационные национальные программы для пациентов с НГЭ, что поспособствует значительному улучшению ситуации [13].

Заключение

Ведущими факторами, оказывающими негативное влияние на КЖ пациенток с болевой формой НГЭ после радикального хирургического лечения, являются ПОЭС, тревожно-депрессивные расстройства, психоэмоциональные и сексуальные нарушения.

В работе были использованы как объективные, так и субъективные показатели каждой пациентки, что позволило осуществить комплексный подход в оценке КЖ больных НГЭ. Результаты проведенного исследования показывают, что наихудшие показатели чаще всего наблюдались в группе с болевой формой НГЭ и «пассивной» тактикой ведения реабилитационного периода (IБ).

Таким образом, рекомендовано проводить интегральную оценку КЖ до и после хирургического лечения, а также применять комплексную персонифицированную реабилитацию, для улучшения общего самочувствия больных, своевременной коррекции психоэмоциональной и сексуальной дисфункции, что значительно повысит КЖ пациенток с НГЭ после радикального лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабабян Л.Р., Орипова А.Ф. Современные представления о наружном генитальном эндометриозе. *Вестник врача.* 2017;1(4), 47–52.

2. Адамян Л.В., Гарданова Ж.Р., Яроцкая Е.Л. и др. Особенности болевого синдрома, психоэмоционального состояния и качества жизни женщин с наружным генитальным эндометриозом. *Проблемы репродукции.* 2016; 3: 77-83. https://doi.org/10.17116/repro201622377-83.

3. Santulli P., Tran C., Gayet V. et al. Oligo-anovulation is not a rarer feature in women with documented endometriosis. *Fertil Steril.* 2018; 110(5):941-948. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.012.

4. Клинические рекомендации. Эндометриоз. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2020. 60 с. Режим доступа: http://www.medico.crimea.com/cprot/endometr.pdf.

5. Pereira A., Herrero-Trujillano M., Vaquero G. et al. Clinical management of chronic pelvic pain in endometriosis unresponsive to conventional therapy. *J Pers Med*. 2022; 13;12(1):101. https://doi.org/10.3390/jpm12010101.

6. Lagana A.S., La Rosa V.L., Rapisarda A. M. C. et al. Anxiety and depression in patients with endometriosis: impact and management challenges. *Int J Womens Health.* 2017; 9:323-330. https://doi.org/10.2147/IJWH.S119729.

7. Бегович Ё., Солопова А.Г., Идрисова Л.Э. и др. Наружный генитальный эндометриоз: качество жизни и реабилитационные технологии. *Врач.* 2021; 32(8):11–17. https://doi.org/10.29296/25877305-2021-08-02.

8. Sylvia Mechsner. Endometriosis, an ongoing pain—step-by-step treatment. *J Clin Med.* 2022; 11(2):467. https://doi.org/10.3390/jcm11020467.

9. Радзинский В.Е., Оразов М.Р., Костин И.Н. Хроническая тазовая боль в гинекологической практике. *Доктор.Ру.* 2019; 7(162):30–35. https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-162-7-30-35.

10. Кузнецова Д.Е., Прокопенко С.В., Макаренко Т.А. Особенности вегетативного статуса и качество жизни женщин с наружным генитальным эндометриозом и синдромом хронической тазовой боли. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019; 68(4):5–12. https://doi.org/10.17816/JOWD6845-12.

11. Оразов М. Р., Исенова С. Ш., Локшин В.Н., Казыбаева А.С., Рыльцева Л.П., Безуглова Т.В. Патогенез эндометриоз-ассоциированной тазовой боли с позиции современных канонов алгологии. *Трудный пациент.* 2022; 20 (1): 11–16. https://doi.org/10.224412/2074-1005-2022-1-11-16.

12. ESHRE Guideline Endometriosis. 2022; 192. https://www.eshre.eu/Guideline/Endometriosis.

13. Блинов Д.В., Солопова А.Г., Санджиева Л.Н. и др. Совершенствование организации медицинской реабилитации в системе здравоохранения: анализ ситуации. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2022;15(2):237-249. https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2022.140.

REFERENCES

1. Agababyan L.R., Oripova A.F. Sovremennye predstavleniya o naruzhnom genitalnom endometrioze. *Vestnik vracha.* 2017;1(4), 47–52. (In Russ.).

2. Adamyan L.V., Gardanova ZH.R., YArockaya E.L. et al. The characteristics of pain syndrome and the women's psycho-emotional status as well as life quality in women with external genital endometriosis. [Osobennosti bolevogo sindroma, psihoemocional'nogo sostoyaniya i kachestva zhizni zhenshchin s naruzhnym genital'nym endometriozom]. *Problemy reproducii.* 2016; 3: 77-83. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/repro201622377-83.

3. Santulli P., Tran C., Gayet V. et al. Oligo-anovulation is not a rarer feature in women with documented endometriosis. *Fertil Steril.* 2018; 110(5):941-948. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.012.

4. Clinical guidelines. Endometriosis. [Klinicheskie rekomendacii. Endometrioz]. Moscow: Ministerstvo zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii, 2020. 60 p. (In Russ.). Available at: http://www.medico.crimea.com/cprot/endometr.pdf.

5. Pereira A., Herrero-Trujillano M., Vaquero G. et al. Clinical management of chronic pelvic pain in endometriosis unresponsive to conventional therapy. *J Pers Med*. 2022; 13;12(1):101. https://doi.org/10.3390/jpm12010101.

6. Lagana A.S., La Rosa V.L., Rapisarda A. M. C. et al. Anxiety and depression in patients with endometriosis: impact and management challenges. *Int J Womens Health.* 2017; 9:323-330. https://doi.org/10.2147/IJWH.S119729.

7. Begovich E., Solopova A., Idrisova L. et al. Quality of life and rehabilitation technologies in patients with external genital endometriosis. [Naruzhniy genitalniy endometrioz: kachestvo zhizni i

reabilitacionniye tehnologii]. Vrach. 2021; 32 (8): 11–17. (In Russ.) https://doi.org/10.29296/25877305-2021-08-02.

8. Sylvia Mechsner. Endometriosis, an ongoing pain—step-by-step treatment. *J Clin Med*. 2022; 11(2):467. https://doi.org/10.3390/jcm11020467.

9. Radzinskij V.E., Orazov M.R., Kostin I.N. Chronic Pelvic Pain in Gynecological Practice. [Hronicheskaya tazovaya bol v ginekologicheskoy praktike] *Doktor.Ru.* 2019; 7(162):30–35. (In Russ.) https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-162-7-30-35.

10. Kuznetsova DE, Prokopenko SV, Makarenko TA. Features of the vegetative status and quality of life in patients with external genital endometriosis and chronic pelvic pain syndrome. [Osobennosti vegetativnogo statusa i kachestvo zhizni zhenshchin s naruzhnym genitalnim endometriozom i sindromom hronicheskoy tazovoy boli]. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2019; 68(4):5–12. (In Russ.) https://doi.org/10.17816/JOWD6845-12.

11. Orazov M.R., Isenova S.Sh., Lokshin V.N. et al. Pathogenesis of endometriosis-associated pelvic pain from the standpoint of modern canons of algology. [Patogenez endometrioz-associirovannoy tazovoy boli s pozicii sovremennyh kanonov algologii]. *Difficult Patient*. 2022; 20 (1): 11–16. (In Russ.) https://doi.org/10.224412/2074-1005-2022-1-11-16.

12. ESHRE Guideline Endometriosis. 2022; 192. https://www.eshre.eu/Guideline/Endometriosis.

13. Blinov D.V., Solopova A.G., Sandzhieva L.N. et al. Strengthening medical rehabilitation services in health system: a situation analysis. [Sovershenstvovanie organizacii medicinskoy reabilitacii v sisteme zdravoohraneniya: analiz situacii]. Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology. 2022; 15 (2): 237–249 (In Russ.). https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2022.140.

ОСОБЕННОСТИ НУТРИТИВНОГО СТАТУСА БЕРЕМЕННЫХ С ТИРЕОТОКСИКОЗОМ

Я.О. Бурлачко[1], А.А. Крюкова[1], Д.А. Шаповалова[1], В.Д. Олейникова[1]

Научные руководители: В.А. Дударева[1], Ю.А. Михайлова[2]

[1]ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, Кафедра здорового образа жизни и диетологии, г. Ростов-на-Дону

[2]Поликлиника РКБ ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России, г. Ростов-на-Дону

Актуальность: Одной из первых ступеней лечения любого заболевания является диетологическая коррекция, тиреотоксикоз не является исключением, особенно у такой уязвимой группы пациентов как беременные женщины. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы, по данным литературы, сопровождаются множественными дефицитами микронутриентов. [1] А также, действие избытка гормонов щитовидной железы, в случае возникновения тиреотоксикоза, изменяет белковый, углеводный и жировой обмен. В основе современных представлений о питании беременных лежит концепция «метаболического (пищевого, нутритивного) программирования», которая предполагает, что особенности питания ребенка в критические периоды жизни программирует особенности его обмена веществ на протяжении всей последующей жизни, а также устанавливает определенную предрасположенность к различным метаболическим заболеваниям, таким как сахарный диабет, ожирение, гипертоническая болезнь и другие. Нутритивный статус матери приводит к определенному уровню дифференцировки и пролиферации клеток плода, что отражается на формировании и функционировании его органов и систем. При этом имеющиеся структурные особенности органов и тканей предопределяют особенности всех видов обмена, что имеет потенциальные краткосрочные долгосрочные последствия как для плода, так и в последствии для ребенка. [2] Особенности питания беременной и достаточное количество нутриентов контролируют экспрессию генов, кодирующих ферменты, а также рецепторные белки и другие структуры, что определяет особенности метаболических процессов. Таким образом, факторы материнского питания играют сигнальную роль в критические периоды развития плода (два месяца после зачатия и три месяца после рождения), влияя на эпигенетические процессы, что оказывает длительное воздействие на здоровье младенца с возможной передачей следующим поколениям. [3] Поэтому изучение нутритивного статуса при тиреотоксикозе является не только перспективной задачей, в связи с тем, что в условиях патогенеза изменяются все виды

обмены, начиная с основного обмена, и соответственно является малоизученной темой с позиции международной литературы, тем временем влияя на здоровье матери и ребенка.

Цель: оценить нутритивный статус пациенток на первом, втором и третьем триместрах беременности с тиреотоксикозом.

Материалы и методы: в исследовании на базе поликлиники РКБ ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России, г. Ростов-на-Дону были отобраны медицинские карты 17 пациенток на первом, втором и третьем триместрах беременности с тиреотоксикозом (критерии постановки диагноза согласно клиническим рекомендациям Российской ассоциацией эндокринологов 2021 г) – ТТГ не более 0,1-0,2 МЕ/л, свободный Т4 превышает 26 пмоль/л, АТ к рТТГ более 1,5 МЕ/л (в соответствии с референсными значениями). Респонденты были разделены на три группы в зависимости от срока гестации: группа №1 (5 пациенток – 29,4%, средний возраст – 30,2±2,9), группа №2 (6 пациенток -35,3%, средний возраст – 31,8±5,7) и группа №3 (6 пациенток – 35,3%, средний возраст – 28,2±0,9). На первичном приеме у эндокринолога пациентки трех групп имели жалобы на: тошноту, рвоту, тремор верхних конечностей, головокружение, тахикардия. Сопутствующие заболевания: 17,65% – гестационный сахарный диабет, 11,76% - железодефицитная анемия, 29,4 % - хронический гастрит и холецистит. Вредные привычки имеют – 17,6% (1-2 сигареты в день). В группе №1 у 60% пациенток диагноз тиретоксикоз – первичный, в группу №2 и №3 – у 67% тиретоксикоз выявлен впервые. Пациенты не находятся на заместительной гормональной терапии. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программы «Excel 2016».

Результаты: *Группа №1:* антропометрические данные - рост – 162,2±6,7; вес – 61,4±4,88; ИМТ -23,4±2,2. *Нутритивный статус*: ОАК - гемоглобин 135,6±5,92 (110-170 г/л), ср.содерж. Hg в эритроците 30,38±0,4 (28-36 pg), ср.концентрация Hg 336 ±10,96 (310-370 g/L), эритроциты 4,5±0,23 (3,8-5,3*10^{12}/л), гематокрит 40,6±1,7 (36-56%), СОЭ 9,4±6,08 (2-15 мм/ч), тромбоциты 250,2±24,64 (120-380*10^{9}/л), базофилы 0,22±0,15 (0-0,2), эозинофилы 0,32 ± 0,18 (0-0,6), лимфоциты 2,62±0,7 (0,4-4,4), моноциты 0,76±0,15(0-0,8), нейтрофилы 5,4±0,32 (1,7-7,7), лейкоциты 9,02±0,7 (4,0-9,0*10^{9}/л). *Биохимия* - общий белок – 69,7 ± 3,5 (64-83 г/л) ; АЛТ 22,06±6,62 (10-40 ЕД/л), АСТ 15,44±3,9 (10-40 ЕД/л), билирубин прямой 6,65±2,4 (0-8,0 мкмоль/л), билирубин непрямой 13,8±5,6 (0-16 мкмоль/л), билирубин общий 20,4±8,03 (3,4-20,5 мкмоль/л), креатинин 53,4±6,5 (62-132 мкмоль/л), мочевина 3,36±0,53 (2,5-8,3 ммоль/л), глюкоза 4,6±0,4 (3,5-6,1 ммоль/л), кальций 3,02±0,7 (8,4-10,2 ммоль/л), магний 0,72±0,06 (1,5-2,0 ммоль/л), калий 4,18±0,6 (3,5-5 ммоль/л), хлор 104,4±2,48 (95-105 ммоль/л), калий

3,25±0,63 (3,5-5 ммоль/л) , гликозилированный гемоглобин 4,44±0,3% (<6%), ТТГ 0,091±0,09 (0,1-2,5 мЕд/л), Т4 28,04±6,63 (12,1-19,6 пмоль/л), АТ к рТТГ 1,3±0,23 (<1,5 МЕ/л). *Через 2 месяца в анализах отмечалась следующая динамика:* билирубин общий 23±13,3 мкмоль/л, магний 1,2±0,1 ммоль/л, калий 3,5±0,72 ммоль/л, ТТГ 0,262±0,208 мЕд/л, Т4 14,5±2,5 пмоль/л. Антропометрические данные изменений не претерпели.

Группа №2: антропометрические данные - рост – 163,19±3,6; вес – 62,9±6,2; ИМТ -23,7±3,3. *ОАК* - гемоглобин 122,2±2,2 (110-170 г/л), ср.содерж. Hg в эритроците 29,6±1,32 (28-36 pg), ср.концентрация Hg 321,9 ±6,74 (310-370 g/L), эритроциты 4,3±0,3 (3,8-5,3*10^{12}/л), гематокрит 37,74±1,93 (36-56%), СОЭ 11±5,2 (2-15 мм/ч), тромбоциты 268,6±12,9 (120-380*10^{9}/л), базофилы 0,18±0,12 (0-0,2), эозинофилы 0,2 ± 0,06 (0-0,6), лимфоциты 2,4±0,5 (0,4-4,4), моноциты 0,6±0,11(0-0,8), нейтрофилы 5,91±2,01(1,7-7,7), лейкоциты 7,96±1,31 (4,0-9,0*10^{9}/л). *Биохимия* - общий белок – 72,6 ± 3,7 (64-83 г/л) , АЛТ 18,02±4,42 (10-40 ЕД/л), АСТ 19,2±2,2 (10-40 ЕД/л), билирубин прямой 2,94±0,7 (0-8,0 мкмоль/л), билирубин непрямой 13,8±5,6 (0-16 мкмоль/л), билирубин общий 21,56±9,1 (3,4-20,5 мкмоль/л), креатинин 52,3±5,7 (62-132 мкмоль/л), мочевина 3,36±0,53 (2,5-8,3 ммоль/л), глюкоза 4,6±0,4 (3,5-5,6 ммоль/л), кальций 4,6 ±2,1 (8,4-10,2 ммоль/л), магний 0,7±0,04 (1,5-2,0 ммоль/л), калий 2,7±0,54 (3,5-5 ммоль/л), хлор 104,4±2,48 (95-105 ммоль/л), гликозилированный гемоглобин % 4,44±0,3 (<6%), ТТГ 0,083±0,06 (0,2-3,0 мЕд/л), Т4 27,04±5,4 (9,6-17 пмоль/л), АТ к рТТГ 3,1±2,6 (<1,5 МЕ/л). *Через 2 месяца отмечалась следующая динамика:* глюкоза 6,24±0,4 ммоль/л, кальций 6,4 ±3,4 ммоль/л, магний 1,2±0,05 ммоль/л, калий 3,1±0,61 ммоль/л, гликозилированный гемоглобин % 6,06±0,7, ТТГ 2,6±4,7 мЕд/л, Т4 14,2±3,8пмоль/л. ИМТ составил 29,7±5,4 кг/$м^2$, что соответствует избыточной массе тела.

Группа №3: антропометрические данные - рост – 163,3±5,7; вес – 68,8±6,1; ИМТ -25,89±2,95. *ОАК* - гемоглобин 115,6±7,1 (110-170 г/л), ср.содерж. Hg в эритроците 29,6±1,3 (28-36 pg), ср.концентрация Hg 323,8 ±6,83 (310-370 g/L), эритроциты 3,9±0,2 (3,8-5,3*10^{12}/л), гематокрит 35,7±1,6 (36-56%), СОЭ 30,83±9,5 (2-15 мм/ч), тромбоциты 291,6±63 (120-380*10^{9}/л), базофилы 0,05±0,04 (0-0,2), эозинофилы 0,2 ± 0,09 (0-0,6), лимфоциты 3,04±0,5 (0,4-4,4), моноциты 0,47±0,28(0-0,8), нейтрофилы 5,94±1,6(1,7-7,7), лейкоциты 10,74±1,9(4,0-9,0*10^{9}/л). *Биохимия* - общий белок – 67,5 ± 4,2(64-83 г/л), АЛТ 13,03±7,1 (10-40 ЕД/л), АСТ 18,5±5,8 (10-40 ЕД/л), билирубин прямой 2,08±1,03 (0-8,0 мкмоль/л), билирубин непрямой 8,02±4,4 (0-16 мкмоль/л), билирубин общий 9,6±4,1 (3,4-20,5 мкмоль/л), креатинин 54,02±9,7 (62-132 мкмоль/л), мочевина 2,8±0,7 (2,5-8,3 ммоль/л), глюкоза 4,12±0,3 (3,5-5,6 ммоль/л), кальций 3,8±1,2 (8,4-10,2 ммоль/л), магний 0,6±0,03(1,5-2,0 ммоль/л), калий 2,25±0,34 (3,5-5 ммоль/л), хлор 104,4±2,48 (95-105

ммоль/л), гликозилированный гемоглобин % 4,44±0,3 (<6%), ТТГ 0,081±0,07 (0,3-3,0 мЕд/л), Т4 25,56±5,63 (8,4-15,6 пмоль/л), АТ к рТТГ 3,1±2,6 (<1,5 МЕ/л). Через 2 месяца отмечалась следующая динамика: СОЭ 31±13,7 мм/ч, гликозилированный гемоглобин % 5,8±0,5, ТТГ 1,4±0,8 мЕд/л, Т4 14±3,1 пмоль/л, кальций 8,1±3,2 ммоль/л, магний 2,6±0,34 ммоль/л, калий 4,3±0,34 ммоль/л, хлор 104,4±2,48 ммоль/л. ИМТ составил 29,7±5,4 кг/м^2, что соответствует избыточной массе тела.

Выводы: нутритивный статус пациенток с тиреотоксикозом на первом триместре беременности: незначительное повышение общего билирубина и лейкоцитов, снижение уровня креатинина, снижение электролитов в крови – кальций и магний. Нутритивный статус пациенток с тиреотоксикозом на втором триместре беременности- повышение общего билирубина, снижение уровня электролитов в крови – кальций, магний и калий, снижение уровня креатинина. Нутритивный статус пациенток с тиреотоксикозом на третьем триместре беременности – избыточная масса тела, снижение уровня гемоглобина и гематокрита, лейкоцитоз, снижение креатинина, снижение электролитов в крови – кальций, магний, калий. Согласно Приказу Минздрава №872н от 09.11.2012 Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при тиреотоксикозе пациенткам был назначен план лечения и через 2 месяца показатели значительно улучшились. Была проведена модификация рациона по микронутриентному составу, за счет адекватной дотации продуктов-витаминов и минералов и введения в рацион витаминно-минеральных комплексов, специализированного состава, в профилактических дозах согласно приказу №396н МЗ РФ. В группе №2 и группе №3 ИМТ составил 29,7±5,4 кг/м^2, что соответствует избыточной массе тела. Поэтому возникла необходимость дополнительно провести оценку фактического питания, что снизит риск развития алиментарно-зависимых заболеваний. Поскольку повышенный ИМТ матери может усиливать системное воспаление и выработку активных форм кислорода, что связано с неблагоприятными клиническими исходами, влияющими как на мать, так и на ребенка.

ЛИТЕРАТУРА

1) Рейман М.П. Множественные факторы питания и заболевания щитовидной железы, с особым упором на аутоиммунные заболевания щитовидной железы. Proc Nutr Soc. 2019 Февраль;78(1):34-44. doi: 10.1017/S0029665118001192. Epub 2018, 13 сентября. PMID: 30208979. Ihnatowicz P, Drywień M, Wątor P, Wojsiat J. The importance of nutritional factors and dietary management of Hashimoto's thyroiditis. Ann Agric Environ Med. 2020 Jun 19;27(2):184-193. doi: 10.26444/aaem/112331. Epub 2019 Oct 2. PMID: 32588591.;

2) Rayman MP. Multiple nutritional factors and thyroid disease, with particular reference to autoimmune thyroid disease. Proc Nutr Soc. 2019 Feb;78(1):34-44. doi: 10.1017/S0029665118001192. Epub 2018 Sep 13. PMID: 30208979;

3) Osowiecka K, Skrypnik D, Myszkowska-Ryciak J. Assessment of the Impact of Nutritional Intervention with the Probiotic Lactiplantibacillus plantarum 299v on Nutritional Status and Quality of Life of Hashimoto's Thyroiditis Patients-A Randomized Double-Blind Study Protocol. J Pers Med. 2023 Nov 28;13(12):1659. doi: 10.3390/jpm13121659. PMID: 38138886; PMCID: PMC10744439.;

4) Приказ Минздрава России от 05.08.2003 No 330 «О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации» (с изм. и доп. на 24.11.2016) [Электронный ресурс]. — URL: https://docs.cntd.ru/document/901871304 (дата обращения: 16.02.2022).;

5) Особенности диетотерапии и нутритивной поддержки у пациентов с гипотиреозом / В. Д. Олейникова, О. Е. Рябыш, А. А. Крюкова, Я. О. Бурлачко // Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний : Материалы V Школы молодых ученых с международным участием, Москва, 09–11 ноября 2022 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 2022. – С. 71-72. – EDN OEKTJW.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДЛЕЖАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ НА РАЗВИТИЕ АССИМЕТРИЧНОЙ ГИПОТРОФИИ ПЛОДА: РИСК КРОВОПОТЕРИ И ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

А.В. Воробьев (Alexander Viktorovich Vorobev), к.м.н., Е.С. Кудрявцева (Ekaterina Sergeevna Kudryavtseva)
ПМГМУ им И.М. Сеченова

Введение

В наше время растет распространенность предлежания плаценты [1]. Предлежание плаценты – это патология, встречающаяся в акушерстве, при которой плацента полностью или частично перекрывает внутренний зев шейки матки, находясь в нижних сегментах матки. Согласно ВОЗ в последние 10 лет прослеживается непрерывный рост частоты не только аномалий расположения плаценты, но и врастания: начиная от 1 на 4000 родов в 1970 году до 1 на 533 в наши дни, это обусловлено увеличением частоты родоразрешений оперативным путём [1]. По данным за 2020 год частота предлежания плаценты с кровоточением/без кровотечения составила 1,66 и 4,33 на 1000 родов [2]. Эта патология встречается у 0,3-2% беременных в третьем триместре и также частично ассоциирована с возрастанием частоты кесарева сечения [3,4].

Предлежание плаценты имеет большое влияние на исход родов. В одном из исследований изучали материнскую заболеваемость у женщин с предлежанием плаценты и определяли факторы риска кровотечения. Было выявлено, что у женщин с предлежанием кровотечение происходило чаще (19 против 7%, aRR 2.6 95%, CI 1.9-3.5). Гипотония, требующая применения утеротоников (aRR 3.1 95% CI 2.0-4.9), переливания эритроцитарной массы (aRR 3.8 95%, CI 2.5-5.7), и гистерэктомии при неэффективности терапии (aRR 5.1 95% CI 1.5_17.3), также чаще встречалась при аномалиях расположени плаценты. Предродовая анемия, тромбоцитопения, диабет у женщин с предлежанием плаценты являются дополнительными факторами риска развития кровотечения [5].

Вагинальное кровотечение при беременности приводит к недостаточному кровоснабжению плода, что приводит к задержке роста плода, внутриутробному дистрессу. При аномалиях расположения плаценты тяжелом дородовом кровотечении, высок процент преждевременных родов в целях спасения жизни матери и плода. Этот процедура связана с рядом ятрогенных осложнений: так в одном из исследований было показано, что переднее предлежание плаценты, выявленное во втором триместре, может быть фактором риска неонатального РДС [6].

Приблизительно 12% преждевременных родов и 3,7% задержки роста плода были связаны с предлежанием плаценты [7]. Исследование показало, что частота преждевременных родов была значительно выше у пациенток с предлежением плаценты. Среди 38 540 женщин у 230 была данная патология (0,6%). По сравнению с контрольной группой, у беременных с предлежанием была значительная взаимосвязь с преждевременными родами до 28 недель (3,5% против 1,3%; $p = 0,003$), 32 недель (11,7% против 2,5%; $p < 0,001$) и 34 недель (16,1 % против 3,0%; $p <0,001$) беременности [8].

Материалы и методы

Было проведено обследование 28 пациенток с диагнозом полное предлежание плаценты, проходивших наблюдение во время текущей беременности, средний возраст которых составил 33,3±4,9 лет.

Результаты

У 6 (21%) беременных была выявлена ассиметричная гипотрофия плода: первой степени у 4 женщин, второй степени у 2. Всем пациенткам было проведено родоразрешение путем операции кесарево сечение. У 6 пациенток преждевременно на сроке 35-37 недель в связи с усилением фето-плацентарной недостаточности и развитием дистресс-синдрома плода, при этом кровопотеря во время операции составила 1278,33±329,87. У 22 женщин кесарево сечение было выполнено на сроке 37-38 недель, кровопотеря составила 1309,52±447,39 мл.

Обсуждение

Исследование подчеркивает значимость выявления аномалий расположения плаценты в сочетании с СЗРП для прогнозирования вероятности большой кровопотери в процессе кесарева сечения и вероятности преждевременных родов, также необходимо тщательного мониторировать состояние плаценты и плода у беременных с предлежанием плаценты для планирования оптимального срока родов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hee-Sun Park and Hyun-Seok Cho; Management of massive hemorrhage in pregnant women with placenta previa.2020 Oct 30; 15(4): 409–416. doi: 10.17085/apm.20076
2. Клинические рекомендации «Патологическое прикрепление плаценты»
3. Katrini Guidolini Martinelli, Érica Marvila Garcia, Edson Theodoro Dos Santos Neto, Silvana Granado Nogueira da Gama; Advanced maternal age and its association with placenta praevia and placental abruption: a meta-analysis; 2018 Feb 19;34(2):e00206116. doi: 10.1590/0102-311X00206116.
4. Jung Min Ryu, Yoon Seok Choi, Jin Young Bae; Bleeding control using intrauterine continuous running suture during cesarean section in pregnant women with placenta previa; 2018 Nov 1.doi: 10.1007/s00404-018-4957-4.
5. Karen J Gibbins, Brett D Einerson, Michael W Varner, Robert M Silver; Placenta previa and maternal hemorrhagic morbidity; 2018 Feb;31(4):494-499. doi: 10.1080/14767058.2017.1289163.
6. Ki Hoon Ahn, Eun Hee Lee, Geum Joon Cho, Resources, Soon-Cheol Hong, Min-Jeong Oh, Hai-Joong Kim,Anterior placenta previa in the mid-trimester of pregnancy as a risk factor for neonatal respiratory distress syndrome, 2018 Nov 2. doi: 10.1371/journal.pone.0207061
7. C V Ananth, K Demissie, J C Smulian, A M Vintzileos; RelaIonship among placenta previa, fetal growth restricIon, and preterm delivery: a populaIon-based study; 2001 Aug;98(2):299-306. doi: 10.1016/s0029-7844(01)01413-2.
8. Placenta previa and the risk of preterm delivery; Marya G Zlatnik, Yvonne W Cheng, Mary E Norton, Mari-Paule Thiet, Aaron B Caughey; 2007 Oct;20(10):719-23. doi: 10.1080/14767050701530163.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА И ИММУННАЯ СИСТЕМА У МАТЕРИ И НОВОРОЖДЁННОГО, ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Н.Р. Гашимова, В.О. Бицадзе, К.Н. Григорьева, А.Д. Макацария

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4.

Аннотация

Обоснование: во время беременности физиологические изменения претерпевают практически все системы организма, но особенную роль в адаптации беременности с ранних ее сроков играют изменения в иммунной системе и системе гемостаза, воспаления. С точки зрения функционирования иммунной системы, беременность представляет собой уникальное состояние, в течение которого организм матери должен, с одной стороны, обеспечивать защиту от патогенов, а с другой проявлять толерантность к антигенам плода. Инфекция SARS-CoV-2 обладает избирательными эффектами в отношении как иммунной системы, так и системы гемостаза, поэтому беременные представляют группу высокого риска осложнений связанных с SARS-CoV-2 и его последствиями на мать и плод.

Цель исследования: определить взаимосвязь нарушений в системах гемостаза и иммунорегуляции у матери и новорожденного после перенесенного COVID-19 во время беременности.

Методы: проведено проспективное исследование «случай–контроль», в которое были включены 152 беременные женщины. Пациентки были разделены на 3 группы: I группа 62 женщины с перенесенным COVID-19 во время беременности и их новорожденные, группа II – 45 пациенток с острым COVID-19 и контрольная группа – 45 здоровых беременных и их новорожденные. У всех женщин определяли содержание уровня Д-димера, vWF, ADAMTS-13, естественных антикоагулянтов, агрегацию тромбоцитов, миелопероксидазу (MPO). У беременных и плодов группы I и контрольной группы определяли концентрацию цитокинов и хемокинов, экспресиию клеточных маркеров, функциональную активность Т-регуляторных клеток.

Результаты: у беременных в острый период заболевания концентрация фибриногена ($p<0,001$), Д-димера ($p<0,001$), антигена vWF ($p<0,001$), MPO ($p<0,001$) были выше по сравнению с контрольной, а концентрация ADAMTS-13 ($p<0,001$), естественных антикоагулянтов (протеина С и антитромбина) ($p<0,001$) ниже. Уровень фибриногена, vWF, ADAMTS-13 у беременных женщин после COVID-19 статистически отличался по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Новорожденные от матерей, переболевших COVID-19 во время беременности, имели высокие значения MPO ($p<0,05$), цитокинов и хемокинов, CD80 и CD86 ($p<0,001$), по сравнению с новорожденными от матерей контрольной группы, а функциональная активность T-reg была ниже ($p<0,001$).

Заключение: у беременных в острый период инфицирования наблюдается картина тромботической формы ДВС-синдрома с гиперфибриногенемией, высокими концентрациями Д-димера, vWF, снижением уровня естественных антикоагулянтов, а также нарушения в оси ADAMTS-13/vWF. У плодов, матери которых перенесли COVID-19 происходит дисрегуляция иммунной системы с развитием воспалительного статуса и активацией иммунной системы.

Ключевые слова: COVID-19, гемостаз, гипервоспаление, синдром фетального воспалительного ответа, беременность.

THE HEMOSTASIS SYSTEM AND THE IMMUNE SYSTEM OF THE MOTHER AND NEWBORN, AFTER SUFFERING COVID-19 DURING PREGNANCY

N. R. Gashimova[1], V. O. Bitsadze[1], K. N. Grigoreva[1], A. D. Makatsariya[1]

[1]Sechenov University; 2 bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow 119991, Russia

Abstract

Background: during pregnancy, almost all body systems undergo physiological changes, but changes in the immune system and the hemostasis system, inflammation play a special role in the adaptation of pregnancy from its early stages. From the point of view of the functioning of the immune system, pregnancy is a unique condition during which the mother's body must, on the one hand, provide protection from pathogens, and on the other, show tolerance to fetal antigens. SARS-CoV-2 infection has selective effects on both the immune system and the hemostasis system, therefore pregnant women are at high risk of complications associated with SARS-CoV-2 and its effects on the mother and fetus.

Aims: to determine the relationship of disorders in hemostasis and immunoregulation systems in mother and newborn after COVID-19 during pregnancy.

Materials and methods: a prospective case–control study was conducted, which included 152 pregnant women. The patients were divided into 3 groups: group I - 62 women with COVID-19 during pregnancy and their newborns, group II – 45 patients with acute COVID-19 and the control group – 45 healthy pregnant women and their newborns. The levels of D-dimer, vWF, ADAMTS-13, natural anticoagulants, platelet aggregation, and myeloperoxidase (MRO) were determined in all women. The concentration of cytokines and chemokines, expression of cellular markers, and functional activity of T regulatory cells were determined in pregnant women and fetuses of group I and control groups.

Results: in pregnant women during the acute period of the disease, the concentration of fibrinogen ($p<0.001$), D-dimer ($p<0.001$), vWF antigen ($p<0.001$), MPO ($p<0.001$) were higher compared to the control, and the concentration of ADAMTS-13 ($p<0.001$), natural anticoagulants (protein C and antithrombin) ($p<0.001$) is lower. The level of fibrinogen, vWF, ADAMTS-13 in pregnant women after COVID-19 was statistically different compared to the control group ($p<0.001$). Newborns from mothers who had COVID-19 during pregnancy had high values of MPO ($p<0.05$), cytokines and chemokines, CD80 and CD86 ($p<0.001$), compared with newborns from mothers of the control group, and the functional activity of T-reg was lower ($p<0.001$).

Conclusions: pregnant women in the acute period of infection have a picture of the thrombotic form of DIC syndrome with hyperfibrinogenemia, high concentrations of D-dimer, vWF, a decrease in the level of natural anticoagulants, as well as disorders in the ADAMTS-13/vWF axis. Fetuses whose mothers have suffered COVID-19 have dysregulation of the immune system with the development of inflammatory status and activation of the immune system.

Keywords: COVID-19, hemostasis, hyperinflammation, fetal inflammatory response syndrome, pregnancy.

Обоснование

Всплеск заболеваемости Новой Коронавирусной инфекцией 2019 года (COVID-19) привлекла большое внимание во всем мире. По состоянию на сентябрь 2023 года общее число случаев заболевания коронавирусной инфекцией превысило 770 миллионов и привело практически к 7 миллионам смертей, что стало огромным вызовом всему человечеству и, в частности, медицинскому сообществу [1]. Более того, беременная женщина и ее плод подвергаются высокому риску заражения COVID-19 [2]. COVID-19 является значительным фактором риска для возникновения неблагоприятных материнских и перинатальных исходов. Многонациональное когортное исследование показало, что диагноз COVID-19 у госпитализированных беременных женщин был связан с более высоким риском осложнений беременности. В исследовании сообщалось о повышении частоты преэклампсии, эклампсии, тяжелых сопутствующих бактериальных инфекций, последующей госпитализации в отделение интенсивной терапии (ОИТ), материнской и перинатальной смертности [3]. Кроме того, среди госпитализированных беременных женщин с COVID-19 большинство (50-80%) рожали во время той же госпитализации с частотой кесарева сечения 50% или выше, и более 25% из этих случаев заканчивались преждевременными родами [4,5].

Тяжелые формы COVID-19 развиваются у беременных женщин с существующими сопутствующими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой системы, почек и печени, а также при наличии артериальной гипертензии, сахарного диабета, ожирения, антифосфолипидного синдрома (АФС) и тромбофилии. COVID-19 может негативно воздействовать на плод посредством активации иммунной системы плода и матери, что может сопровождаться синдромом воспалительного ответа плода [6].

Заражение COVID-19 запускает каскад многочисленных клеточных и биохимических изменений: выработку провоспалительных цитокинов, внеклеточных ловушек нейтрофилов, повреждение эндотелиацитов, активацию тромбоцитов. COVID-19 является ярким примером цитокинового шторма, ДВС-синдрома, тромботического шторма, тромбовоспаления и иммунотромбоза. Иммунотромбоз – это процесс, обозначающий патогенетическую связи между системой гемостаза, воспалением и иммунитетом [7].

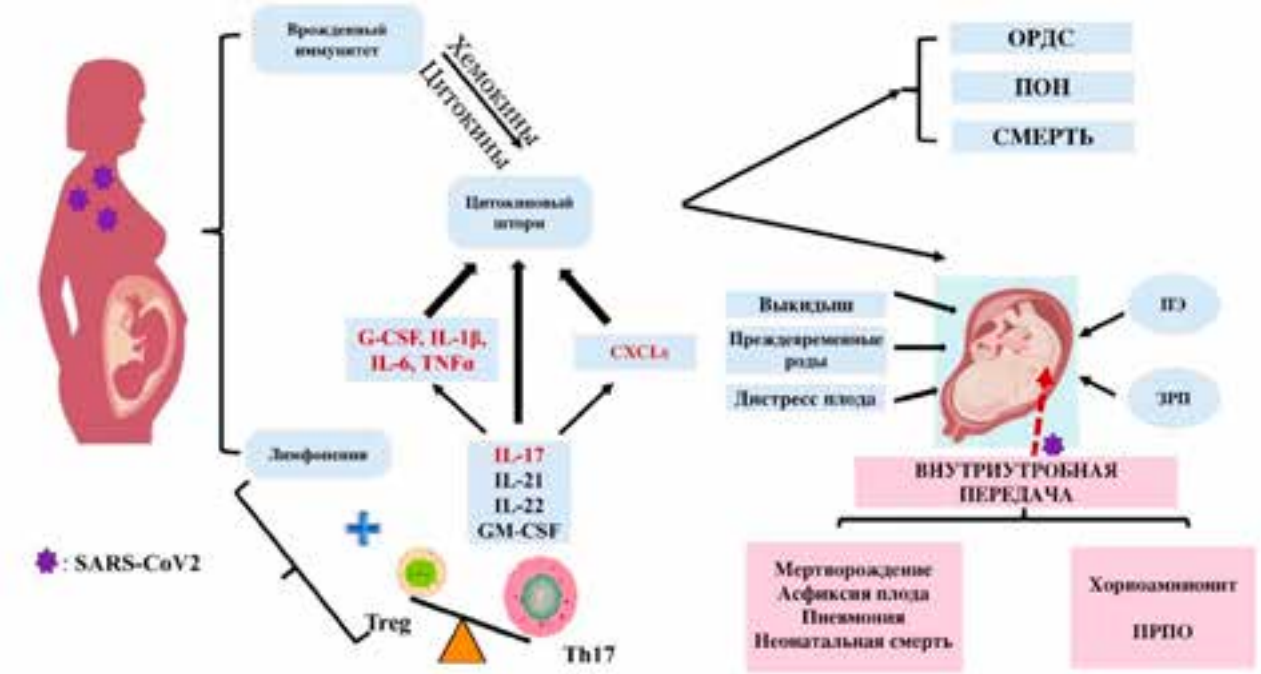


Рис.1. Влияние SARS-CoV-2 во время беременности

Примечание: ОРДС – острый респираторный дистресс синдром, ПОН – полиорганная недостаточность, ПЭ - преэклампсия, ЗРП – задержка роста плода, ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек.

Без сомнений, гипервосполительная реакция, проявляющаяся при инфекциях SARS-CoV-2, способствует тяжелому течению заболевания как у матери, так и у плода [8]. Гипервоспаление при COVID-19 связывают с рядом факторов: высвобождение нейтрофилов с последующей инфильтрацией в различных органах и тканях, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs), цитокиновый шторм [9]. Тяжелые случаи COVID-19 характеризуются повышением уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов в плазме крови, особенно интерлейкинов IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7 и IL-10, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующег фактора (GM-CSF) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF-a) [10]. Интересен тот факт, что иммунный ответ на COVID-19 характеризуется увеличением Т-хелпер 17 (Th17) с одновременным снижением регуляторных Т-клеток (Treg), что впоследствии приводит к снижению соотношения Treg/Th17 [11]. Важными факторами гипервоспалительного процесса при тяжелом и критическом течении коронавирусной инфекции являются высокие концентрации цитокинов и хемокинов, которые в свою очередь способствуют дисфункции плацентарного барьера с возникновением плацента-ассоциированных осложнений [12].

Как известно, более частыми осложнениями и неблагоприятными последствиями у пациентов с COVID-19 являются тромботические осложнения (тромбозы, инфаркты миокарда, ишемические инсульты, тромбозы необычных локализаций). По данным мировой литературы частота тромботических осложнений колеблется от 60 до 80 % [13, 14]. А более высокие уровни

маркеров гемостаза в плазме крови связаны с худшим прогнозом и более высокой смертностью [15]. SARS-CoV-2 приводит к более глубоким изменениям в системе гемостаза, которые включают активацию внешнего и внутреннего путей системы коагуляции, тромбоцитов, подавление фибринолиза, тромботическую микроангиопатию, что является факторами риска более тяжелого течения инфекции по сравнению с небеременными [16].

Целью нашего исследования является определение взаимосвязи нарушений в системах гемостаза и иммунорегуляции у матери и новорожденного после перенесенного COVID-19 во время беременности.

Методы

Дизайн исследования

В рамках проспектового сравнительного исследования типа “случай-контроль” проведен комплексный анализ периферической крови 152 беременных женщин и пуповинной крови 107 новорожденных. Набор материала для исследования осуществлялся в родовспомогательных стационарах 2 и 3 уровня.

Группы обследованных

Для проведения исследования были выделены следующие клинические группы: группа контроля - 45 пациенток с физиологическим течением беременности и их новорожденные; группа исследования - пациенты с COVID-19 во время беременности, включавшая группу сравнения (II) - 45 пациенток с острым течением COVID-19 и основную группу (I) - 62 беременных с перенесенным COVID-19 во время данной беременности и их новорожденные.

Критерии включения и исключения

Критерии включения (основная группа): лабораторно верифицированная инфекция SARS-CoV-2 (положительный ПЦР-тест); возраст 18 лет и более; беременность 1 плодом; информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения (контрольная группа): отсутствие лабораторного подтверждения инфекции SARS-CoV-2, соматической и гинекологической патологии; согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: вакцинированные женщины; возраст менее18 лет; инфекционные и/или воспалительные процессы, наличие антител к ВИЧ, маркерам вирусных гепатитов, сифилиса.

Методы исследования

Для комплексного анализа были собраны венозная кровь беременных и пуповинная кровь их новорожденных детей. Далее цельная кровь центрифугировалась для получения плазмы, которая хранилась при температуре – 29 °С до исследования. В плазме определяли: уровень Д-димера, методом латекс-теста TECHNOLEIA® D-Dimer Latex Kit (набор Technoclone, Austria);

антигена vWF (vWF:Ag) с помощью МФА (иммунофлуоресцентный анализ) TECHNOZYM® (набор Technoclone, Austria); содержание антигена ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ag), ингибитора ADAMTS-13 (ADAMTS-13:i), и активность ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ac) с использованием хромогенного набора тестов Technoclon (TECHNOZYM®, Австрия); соотношение ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag, уровень миелопероксидазы (MPO) с помощью набора Hbt human MPO ELISA (Hycult Biotech, Нидерланды).

У беременных и плодов группы I и контрольной группы определяли концентрацию цитокинов проточным иммуноферментным анализом (ИФА) с помощью набора реагентов MILLIPLEX ® Map (Millipore, США); уровни экспресиии клеточных маркеров методом многоцветного иммунофенотипирования с использованием набора антител (BeckmanCoulter, США); функциональную активность Т-регуляторных клеток.

Также всем беременным женщинам определяли: уровни антитромбина и протеина С иммуноферментным методом с помощью наборов TECHNOCHROM® AT III, Protein C (Technoclone, Austria), агрегационную способность тромбоцитов с помощью агрегометра АРАСТ 4004 (LABiTec®, Германия) по методу Born со стимуляторами агрегации. Все тесты выполнены на сертифицированном оборудовании.

Этические аспекты

Все процедуры, выполненные в данном исследовании, соответствовали этическим стандартам Хельсинской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям и сопоставимым нормам этики. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании и отбор биоматериала для анализа.

Исследование получило одобрение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 04–22 от 16.02.2022.

Статистический с анализ

Сбор и хранение данных осуществлялся в пакете Microsoft Excel (Microsoft, США, 2021). Для статистического анализа использовали специализированное программное обеспечение: Jamovi (The jamovi project, Австралия, версия 2.3.22). Сравнение групп и периодов наблюдения проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Описательные статистики представлены медианой и межквартильным размахом (Me [Q1; Q3]). Проверка различия между статистическими величинами использовалась путем расчета точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при значении достоверности $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Результаты

Клинико-анамнестические данные и перинатальные исходы обследованных беременных представлены в **таблице 1**.

Таблица 1. Клинико-анамнестические характеристики и перинатальные исходы

Показатель	**Группа I n = 62**	**Группа II n = 45**	**Контрольная n = 45**
Возраст, лет, M Min–max	32 (19–40)	27,7 (18–38)	29 (19–39)
Индекс массы тела, до беременности, кг/м^2, M	27,5	25,8	25,5
Группа крови, n (%):			
• группа крови 0	19 (30,7)	14 (31,2)	13 (28,9)
• группа крови A	28 (45,1)	20 (44,4)	17 (37,8)
• группа крови B	12 (19,4)	9 (20,0)	11 (24,4)
• группа крови AB	3 (4,8)	2 (4,4)	4 (8,9)
Предыдущие беременности, n (%):			
• нерожавшие	28 (45)	20 (44,4)	23 (51,1)
• своевременные роды	20 (32,3)	34 (75,5)	29 (64,4)
• преждевременные роды	5 (8)	3 (6,7)	-
• потери беременности	23 (37,1)	21 (46,7)	6 (13,3)
Артериальная гипертензия, n (%)	6 (9,7)	3 (6,7)	-
Преэклампсия, n (%)	4 (6,5)	2 (4,4)	-
Степень тяжести COVID-19, n (%):			
• легкая	34 (54,8)	37 (82,2)	-
• средняя	15 (24,1)	6 (13,3)	-
• тяжёлая	13 (21)	2 (4,4)	-
Триместр беременности (+ COVID-19), n (%):			
- I триместр	11 (17,8)	5 (11,2)	-
- II триместр	21 (33,8)	11 (24,4)	-
- III триместр	30 (48,4)	29 (64,4)	-
ПРПО, n (%)	11 (17,7)	-	7 (15,6)
Преждевременные роды, n (%)	7 (11,3)	-	1 (2,2%)
ПОНРП, n (%)	2 (3,2)	-	0
Роды через естественные родовые пути, n (%)	51 (82,3)	-	44 (97,8)
Роды путем операции кесарева сечения, n (%)	11 (17,7)	-	1 (2,2)
Оценка по шкале Апгар на 5-й м. <7 б., n (%)	3 (4,8)	-	0
Масса тела, г, M (Min–max)	3106 (1580–4100)	-	3356 (2970 – 3980)

Обследованные женщины достоверно не различались с точки зрения материнских характеристик. У 19/62 (30,6%) беременных из I группы развились плацента-ассоциированные осложнения: ПРПО, преждевременные роды, ПОНРП, преэклампсия.

Результаты лабораторных исследований беременных женщин

Медианы лабораторных показателей обследованных беременных представлены в таблице 2.

Таблица 2. Данные изученных лабораторных показателей у беременных

Показатель	**Группа I n = 62**	**Группа II n = 45**	**Контрольная n = 45**	**P, U-test**
Фибриноген, г/л	6,11 [5,72-6,43]	7,41 [6,2-8,98]	4,01 [3,81-4,72]	<0,001* <0,001**
АЧТВ, сек	28,6 [26,7-31,0]	29,1 [26,9-31,7]	27,8 [25,8-30,8]	0,314* 0,457**
ПВ, сек	10,4 [10,0-11,0]	10,8 [10,0-11,3]	11,2 [10,0-11,9]	0,514* 0,673**
ТВ, сек	13,2 [11,3-14,6]	13,7 [11,8-15,1]	14,1 [11,2-15,7]	0,514* 0,498**
Д-димер, нг/мл	1567 [1194-1919]	2058 [1665-3198]	1467 [1167-1812]	0,238* <0,001**
Агрегация с: *АДФ, %*	73 [64-81]	98 [74-103]	63 [57-71]	<0,001* <0,001**
Ристомицином, %	81 [59-98]	89 [77-107]	65 [53-78]	<0,001* <0,001**
Коллагеном, %	75 [66-87]	94 [76-102]	66 [57-72]	<0,001* <0,001**
Андреналином, %	89 [63-98]	97 [68-113]	72 [62-81]	<0,001* <0,001**
vWF:Ag, Ед/мл	2,29 [1,78-3,22]	2,31 [2,17-2,61]	1,78 [1,57-1,9]	<0,001* <0,001**
ADAMTS-13:Ac, Ед/мл	0,758 [0,487-0,814]	0,514 [0,41-0,68]	0,696 [0,538-0,859]	0,003* 0,843**
ADAMTS-13:Ag, Ед/мл	0,752 [0,587-0,82]	0,39 [0,26-0,45]	0,788 [0,684-0,894]	0,613* <0,001**
ADAMTS-13:i, Ед/мл	4,7 [3,7-6,4]	6,21 [2,78-10,1]	2,8 [1,2-4,3]	< 0,001* <0,001**
ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag	0,347 [0,21-0,49]	0,15 [0,11-0,21]	0,49 [0,43-0,59]	0,001* <0,001**
vWF:Ag/ADAMTS-13:Ag	2,87 [2,03-4,76]	6,51 [4,74-9,22]	2,03 [1,7-2,3]	< 0,001* <0,001**
Антитромбин III, %	90,2 [80,2-100,5]	71,3 [66,4-90,5]	92,8 [86,3-104,5]	0,374* <0,001**
Протеин С, %	96,0 [78-113,1]	67,2 [56,2-87,4]	98,6 [84-121,1]	0,396* <0,001**
MPO, нг/мл	11,84 [6,63-26,12]	21,2 [13,7-34]	12,78 [7,92-18,38]	0,837* 0,002**

*Примечание***:** Данные представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным интервалом [Q_1—Q_3]; *значимость различий между группой I и контрольной группой; **значимость различий между: группой II и контрольной группой

Оценка рутинных коагуляционные тестов (АЧТВ, ПВ, ТВ) у беременных не показало статистической разницы. Однако как видно из таблицы 2 были выявлены статистические различия между беременными с перенесенным COVID-19 и контрольной группой при оценке уровня фибриногена ($p<0,001$), таким же образом концентрация фибриногена у пациенток в острой фазе инфицирования была выше по сравнению с контролем ($p<0,001$).

При выполнении данного исследования у беременных, перенесших COVID-19, не выявлено значимой разницы в показателях Д-димера. Между тем показатели в острый период болезни у пациенток были значительно выше по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$).

Оценка функциональной активности тромбоцитов как в острый период болезни, так и после выздоровления выявила увеличение агрегация тромбоцитов со стимуляторами агрегации: АДФ ($p<0,001$), ристомицином ($p<0,001$), коллагеном ($p<0,001$), адреналином ($p<0,001$) по сравнению со здоровыми беременными.

При определении концентрации фактора фон Вилебранда (vWF:Ag) были выявлены достоверные различия в группах исследования. Так медиана vWF:Ag у пациенток после COVID-19 была выше по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Аналогично и в острый период болезни показатели были выше по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Из вышесказанного следует, что в плазме реконвалесцентов COVID-19 продолжается активация как тромбоцитов, так и эндотелиоцитов, даже после выздоровления.

Анализ концентрации и активности ADAMTS-13 у беременных женщин группы I не выявило значимой разницы по сравнению с контролем. Но при этом, у беременных в острый период COVID-19 и активность, и концентрация антигена ADAMTS-13 были достоверно ниже ($p=0,003$), ($p<0,001$).

Учитывая биологическое взаимодействие ADAMTS-13 и vWF, представлялось целесообразным рассчитать отношение и проанализировать ось ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag. Так были получены интересные результаты у беременных женщин как в острый период COVID-19, так и после выздоровления показатели отношения были статистически ниже по сравнению с контролем ($p<0,001$), ($p=0,001$). Таким образом, регуляторная функция оси ADAMTS-13/vWF восстанавливается после коронавирусной инфекции.

При оценке концентрации естественных антикоагулянтов (ЕА) у беременных в острый период болезни показатели статистически снижены по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Однако после перенесённой коронавирусной инфекции показатели статистически не отличались от контрольной группы.

По мнению многих авторов патологически связующим звеном между повреждением эндотелия и иммунотромбозом могут служить NETs [17]. Так при анализе концентрации MPO

показатели в группе II были значительно выше по сравнению с контролем (p=0,002), однако в группе I статистической разницы выявлено не было.

Аннализ показателей иммунной системы у беременных реконвалесцентов COVID-19 и здоровых беременных показал однородные результаты при определении содержания цитокинов и хемокинов, CD80 и CD86, экспрессируемых на дендритных клетках (ДК), функциональной характеристики и количество Treg клеток (p=0,248).

Результаты лабораторных исследований пуповинной крови

Результаты лабораторных показателей пуповинной крови новорожденных в исследуемых группах представлены в таблице 3**.**

Таблица 3. Результаты изученных лабораторных показателей в пуповинной крови новорожденных

Показатель	**Группа I n = 62**	**Контрольная n = 45**	**P, U-test**
vWF:Ag, Ед/мл	1,55 [1,12-2,17]	1,42 [1,05-2,07]	0,723
ADAMTS-13:Ac, Ед/мл	0,75 [0,64-0,89]	0,79 [0,65-0,91]	0,927
ADAMTS-13:Ag, Ед/мл	0,78 [0,64-0,93]	0,79 [0,63-1,01]	0,583
ADAMTS-13:i, Ед/мл	5,86 [2,97-11,4]	3,99 [1,9-7,77]	0,016
ADAMTS-13:Ac/vWF:Ag	0,48 [0,34-0,73]	0,56 [0,35-0,75]	0,513
ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag	0,48 [0,31-0,72]	0,54 [0,32-0,89]	0,507
MPO нг/мл	12,3 [4,6-24,8]	7,1 [2,8-17,4]	<0,05
CXCL 10	68,4 [37,1-92,6]	25,1 [9,8-32,1]	<0,001
GM-CSF	23,3 [15,4-47,1]	19,2 [14,6-28,7]	0,582
IL-1α	6,5 [1,8-21,3]	1,8 [1,2-5,3]	0,018
IL-6	13,8 [6,1-38,4]	2,9 [1,3-10,1]	0,032
IL-8	52,7 [23,1-418,3]	21,9 [6,7-116]	0,061
IL-10	12,5 [7,7-49,1]	5,4 [2,1-13]	0,003
TNFα	25,2 [16,9-28,7]	12,1 [9,1-18,3]	<0,001
CD80	45,2 [35; 65,1]	13,8 [4,9; 19,8]	<0,001
CD86	41,8 [36,8; 69,4]	17,8 [6,9; 25,1]	<0,001
Treg ($CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)	43,8 [29,4;58,6]	71,2 [53,1; 78,6]	<0,001

Примечание: Данные представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным интервалом [Q_1–Q_3].

При анализе содержания vWF, активности и концентрации ADAMTS-13 в пуповиной крови новорожденных были получены однородные результаты. По полученным данным был сделан вывод о том, что у новорожденных не страдала ось ADAMTS-13/vWF.

Тем не менее, при исследовании показателей иммунной системы мы увидели достоверно высокие концентрации MPO у новорожденных от матерей переболевших COVID-19, по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

При исследовании концентрации провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-1a, IL-6, IL-10, CXCL-10, TNFa) в пуповинной крови новорожденных от матерей группы I были

получены статистически высокие значения, по сравнению с новорожденными контрольной группы. Более того у этих новорожденных мы увидели выраженную экспрессию CD80 и CD86 на ДК ($p<0,001$).

Анализ функциональной активность Treg у новорожденных, от матерей переболевших коронавирусной инфекцией выявил достоверное снижение концентрации Treg по сравнению с новорожденными контрольной группы ($p<0,001$)**.**

На основании вышеизложенного мы увидели значительную активацию иммунной системы у плодов с высокими концентрациями цитокинов, CD80 и CD86 с развитием синдром фетального воспалительного ответа, которое не было связано с тяжестью протекания коронавирусной инфекции у матери.

Обсуждение

Настоящее исследование продемонстрировало, что для пациенток с коронавирусной инфекцией свойственно активация иммунной системы и системы гемостаза. В острый период COVID-19 характерна выраженная гиперагрегация тромбоцитов, высокие уровни Д-димера, vWF и фибриногена, в сочетании с низкими значениями естественных антикоагулянтов, а также нарушения в оси ADAMTS-13/vWF по сравнению с контрольной группой, таким образом у беременных в острый период COVID-19 наблюдается картина тромботической формы ДВС-синдрома.

Наши данные совпадают с данными мировой литературы, так в работе Wang с соав. у беременных пациенток с коронавирусной инфекцией были высокие концентрации Д-димера по сравнению со здоровыми [18]. А исходя из данных предыдущего исследования на базе нашей кафедры в группе небеременных нарушение оси vWF/ADAMTS-13 коррелировало с тяжестью протекания COVID-19 [19]. В исследовании E. Grandone с соав. нарушение функционирования оси vWF/ADAMTS-13 коррелировало с частотой преждевременных родов [20].

У беременных реконвалестентов во время беременности также присутствует гиперагрегация и гиперфибриногенемия по сравнению с контрольной группой, а вот показатели Д-димера и ЕА, а также иммунологические показатели достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Несмотря на нормализацию иммунологических показателей и цитокинового профиля у беременных, к моменту родов, у плодов происходит дисрегуляция иммунной системы с развитием воспалительного статуса и активацией иммунной системы.

Заключение

Результаты настоящего исследования демонстрируют негативное влияние SARS-CoV-2 на иммунную систему плода. Степень тяжести коронавирусной инфекции у беременных не

зависит от тяжести фетального системного воспалительного ответа. Более того полученные данные дают новое представление об эндотелиопатии и дисбаланса оси ADAMTS-13/vWF как у беременных в острый период инфици рования, так и у беременных после перенесенного COVID-19. В соответствии с ключевой ролью иммунотромбоза, полученные данные подтверждают гипотезу о сохранении стойкой эндотелиопатии и дисфункции гемостаза после COVID-19. Но вместе с тем, необходимы дальнейшие исследования на более крупных выборках с более длительным последующим наблюдением для подтверждения этих данных. При подтверждении полученных данных откроются новые возможности в терапии постковидных состояний.

Источник финансирования

Исследование и публикации статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Контактная информация

Гашимова Нилуфар Рамиль кызы – ассистент кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: nelya.94@yandex.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0764-4477. Телефон:8(966)3372909

Бицадзе Виктория Омаровна – д.м.н., профессор РАН, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8404-1042. Scopus Author ID: 6506003478. Researcher ID: F-8409-2017.

Григорьева Кристина Николаевна – ассистент кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7756-8935.

Макацария Александр Давидович – д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7415-4633. Scopus Author ID: 57222220144. Researcher ID: M-5660-2016.

ЛИТЕРАТУРА

1. The World Health Organization : офиц. сайт. – URL: https://www.who.int

2. Pregnant women with severe or critical coronavirus disease 2019 have increased composite morbidity compared with nonpregnant matched controls / DeBolt C.A., Bianco A., Limaye M.A. [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2021. - 510.e1–510.e12.

3. Maternal and neonatal morbidity and mortality among pregnant women with and without COVID-19 infection: the INTERCOVID multinational cohort study / J. Villar, S. Ariff, R.B. Gunier, R.Thiruvengadam, [et al.] // JAMA Pediatr. – 2021. – 175. (8). – P.817-826.

4. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control patients: a systematic review and meta-analysis / M. Jafari, A. Pormohammad, S.A. SheikhNeshin [et al.] // Rev Med Virol, 31 (5) (2021), pp. 1-19

5. A systematic review and meta-analysis of data on pregnant women with confirmed COVID-19: clinical presentation, and pregnancy and perinatal outcomes based on COVID-19 severity / Z.S. Lassi, A. Ana, J.K. Das, R.A. Salam, Z.A. Padhani, O. Irfan, Z.A. Bhutta // J Glob Health, 11 (2021)

6. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes / Muyayalo, K.P.; Huang, D.; Zhao, S.; Xie, T.; Mor, G.; Liao, A. // Am. J. Reprod. Immunol. 2020. *84*, e13304.

7. Knight J.S., Kanthi Y. / Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome // Semin. Immunopathol., 2022, Vol. 44, no. 3, pp. 347-362.

8. HLH across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / Mehta, P.; McAuley, D.F.; Brown, M.; Sanchez, E.; Tattersall, R.S.; Manson, J.J. // Lancet. 2020. *395*, 1033–1034.

9. Gustine, J.N.; Jones, D. / Immunopathology of hyperinflammation in COVID-19. // Am. J. Pathol. 2021, *191*, 4–17.

10. T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19 / Luo, X.; Zhu, Y.; Mao, J.; Du, R. // Scand. J. Immunol.2021, *93*, e12989.

11. Muyayalo, K.P.; Huang, D.; Zhao, S.; Xie, T.; Mor, G.; Liao, A. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2020, *84*, e13304.

12. Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy / C. Fenizia, M. Biasin, I. Cetin [et al.] // Nature Communications. – 2020. – Vol. 11.– № 1.– P. 1-10.

13. Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. / Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia // J Thromb Haemost. 2020;18(6):1421–4.

14. Extremely high incidence of lower extremity deep venous thrombosis in 48 Patients with severe COVID-19 in Wuhan / Ren B, Yan F, Deng Z, [et al.] // Circulation. 2020;142(2):181–3.

15. Prothrombotic changes in patients with COVID-19 are associated with disease severity and mortality / von Meijenfeldt FA, Havervall S, Adelmeijer J [et al.] // Res Pract Thromb Haemost. 2021;5(1):132–41.

16. Бицадзе В.О., Гашимова Н.Р., Григорьева К.Н., Хизроева Д.Х., Третьякова М.В., Дегтярева Н.Д., Кварацхелия М.В., Якубова Ф.Э., Накаидзе И.К., Гри Ж.-К., Элалами И., Слуханчук Е.В., Макацария А.Д. COVID-19, тромбовоспаление и дисрегуляция гемостаза у беременных. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2023; 22(3): 86–94.

17. Circulating dsDNA, endothelial injury, and complement activation in thrombotic microangiopathy and GVHD / N. J. Gloude, P. Khandelwal, N. Luebbering [et al.] // Blood. – 2017. – Vol. 130. – № 10. – P. 1259-1266.

18. A considerable asymptomatic proportion and thromboembolism risk of pregnant women with COVID-19 infection in Wuhan, China / Y. Wang, X. Liang, H. Wang [et al.] // J Perinat Med. – 2020. – Vol. 49. – № 2. – P. 237-240.

19. Патогенетическое и прогностическое значение воспаления и нарушений в оси ADAMTS-13/vWF у больных тяжелой формой COVID-19 / В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, Ж. Гри [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2022. – Т. 16. – № 3.– С. 228-243.

20. Obstetric outcomes in pregnant COVID-19 women: the imbalance of von Willebrand factor and ADAMTS13 axis / E. Grandone, A. Vimercati, F. Sorrentino [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. – 2022. – Vol. 22. – № 1. – P. 142-149.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОСИ ADAMTS-13/VWF В СИСТЕМЕ МАТЬ-ПЛОД

К.Н. Григорьева, Н.Р. Гашимова, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

Абстракт

Введение. На примере пандемии COVID-19 была определена важность оценки оси ADAMTS-13/vWF, поскольку снижение этого отношения отражало тяжесть заболевания. Однако информации о влиянии и уровнях ADAMTS-13/vWF у женщин во время беременности крайне мало, а представленные данные в мировой литературе очень противоречивы. Учитывая значимость влияния оси ADAMTS-13/vWF на частоту развития тромбозов и нарушений в системе гемостаза, исследование этого вопроса является крайне необходимым.

Цель: определить особенности функционирования оси ADAMTS-13/vWF во время беременности.

Материалы и методы. Проведено исследование состоящее из 2 этапов: на 1-ом этапе в основную группу вошли 63 женщины с физиологическим течением беременности в I, II и III триместрах, контрольную группу составили 45 здоровых небеременных женщин. На 2-ом этапе был проведен сравнительный анализ между беременными женщинами с физиологическим течением беременности и женщинами с развившейся поздней преэклампсией в в I, II и III триместрах.

Всем пациентам трижды во время беременности в плазме крови измеряли содержание ингибитора ADAMTS-13 (ADAMTS-13:i), активность ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ac), антигена ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ag) и антигена vWF (vWF:Ag), а также их отношение (ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag).

Результаты. Начиная со II триместра физиологической гестации происходят значительные изменения в функционировании оси ADAMTS-13:Ag /vWF:Ag, а в III триместре эти различия достигают пика.

На втором этапе в ходе сравнительного анализа по расчетам cut-off с помощью ROC- кривой было обосновано проведение скрининга на преэкламспию в I триместре, используя ось ADAMTS-13/vWF.

Заключение. Исследование представляет фундаментальные данные о физиологии функционирования оси ADAMTS-13/vWF у женщин с нормальным течением беременности в I, II и III триместрах.

Ключевые слова: беременность, ADAMTS-13, vWF

FEATURES OF THE FUNCTIONING OF THE ADAMTS-13/VWF AXIS IN THE MOTHER-FETUS SYSTEM

K. N. Grigoreva[1], N. R. Gashimova[1], V. O. Bitsadze[1], J. Kh. Khizroeva[1], A.D. Makatsariya[1]

[1] Sechenov University; 2 bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow 119991, Russia

Abstract

Introduction. The importance of assessing the ADAMTS-13/vWF axis has been highlighted through the example of the COVID-19 pandemic, as a decrease in this ratio reflected the severity of the disease. However, there is limited information on the impact and levels of ADAMTS-13/vWF in women during pregnancy, and the available data in the global literature are highly contradictory. Considering the significance of the ADAMTS-13/vWF axis in the frequency of thrombosis development and hemostasis system disorders, investigating this issue is extremely necessary.

Objective: To determine the specific functioning characteristics of the ADAMTS-13/vWF axis during pregnancy.

Materials and Methods. The study consisted of two stages: in the first stage, the main group included 63 women with physiological pregnancies in the first, second, and third trimesters, while the control group consisted of 45 healthy non-pregnant women. In the second stage, a comparative analysis was conducted between pregnant women with physiological pregnancies and women with late-onset preeclampsia in the first, second, and third trimesters. All patients had the ADAMTS-13 inhibitor content (ADAMTS-13:i), ADAMTS-13 activity (ADAMTS-13:Ac), ADAMTS-13 antigen (ADAMTS-13:Ag), vWF antigen (vWF:Ag), and their ratio (ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag) measured in plasma three times during pregnancy.

Results. Significant changes in the functioning of the ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag axis occur starting from the second trimester of physiological gestation, with these differences reaching their peak in the third trimester. In the second stage, a screening for preeclampsia in the first trimester was justified through a comparative analysis using cut-off calculations via ROC curve based on the ADAMTS-13/vWF axis.

Conclusion. The study provides fundamental data on the physiology of the ADAMTS-13/vWF axis in women with normal pregnancies in the first, second, and third trimesters.

Keywords: pregnancy, ADAMTS-13, vWF

Введение и актуальность исследования

Изучение и улучшение понимания патогенеза серьезных осложнений беременности, таких как преэклампсия, шок и шокоподобные состояния, тромбозы, тромбоэмболии и др., имеют огромное научно-практическое значение для акушерско-гинекологической практики. На данный момент не вызывает сомнения, что такие системы: как система гемостаза, комплемента, воспаления, сосудистые факторы играют огромную роль в физиологии беременности. Многие аспекты функционирования этих систем становятся известны благодаря открытию новых синдромов, таких как антифосфолипидный синдром (АФС), генетические формы тромбофилии. За последние десятилетия стала известна роль воспаления, системы комплимента, сосудистых факторов, факторов роста в развитии типичных акушерских осложнений, таких как: преэклампсия, задержка роста плода, появилось даже понятие плацента-ассоциированные осложнения беременности. Но до сих пор, недостаточно внимания уделялось вопросам тромботической микроангиопатии, в частности роли матриксной металлопротеиназы ADAMTS- 13 и фактору фон Виллебранду (vWF), а точнее оси взаимодействия ADAMTS-13/vWF, как при физиологическом, так и при патологическом течении беременности.

Фактор фон Виллебранда является субстратом для металлопротеиназы ADAMTS-13, это крайне взаимосвязанные друг с другом субстанции. На сегодняшний день хорошо известно, что в момент массивного повреждения эндотелия происходит значительный выброс vWF из телец Вайбеля-Паладе, что приводит к относительной недостаточности ADAMTS-13 и в дальнейшем к развитию тромбоцитопении потребления и тромбозу микрососудов [1]. По стечению обстоятельств пандемия COVID-19 продемонстрировала, что эндотелиальная дисфункция, которая развивается в условиях тромбовоспаления, приводит к дисрегуляции оси ADAMTS-13/vWF и влияет на исходы течения заболевания [2]. Ярким примером развития тромбовоспаления во время беременности служит преэклампсия. Однако на сегодняшний день данные о роли ADAMTS-13, в меньшей степени vWF, во время беременности очень ограничены.

Цель исследования: совершенствование диагностических алгоритмов определения оси ADAMTS-13 /vWF в системе мать-плод во время беременности.

Материалы и методы / Materials and Methods

Дизайн исследования / Study design

Для исследования был использован материал, собранный в Перинатальном центре Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №67 им. Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения Москвы» и в ООО «Медицинский женский центр».

Исследование проведено в два этапа. На 1-ом этапе проведено исследование уровней ADAMTS-13, vWF и оси ADAMTS-13/vWF у пациенток с физиологическим течением беременности в I, II, III триместрах гестации. Было обследовано 167 беременных женщин, в ходе исследования из работы исключены 104 женщины (n=63). На 2-ом этапе определены уровни ADAMTS-13, vWF и оси ADAMTS-13/vWF в I, II и III триместрах гестации, у пациенток с развившейся поздней преэклампсией (n=15).

Статистический анализ / Statistical analysis

Данные пациенток вносились в электронную таблицу Microsoft Office Excel 2021 (Microsoft, США). Статистическая обработка систематизированных была выполнена с помощью программы Jamovi, версия 2.3.22 (The jamovi project, Австралия). Статистический анализ включал в себя расчёт описательных статистик: средней величины (M) и среднеквадратического отклонения (SD), медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1-Q3). При ненормальном распределении данных определялись медианы с интерквартильным размахом. Для сравнения показателей между группами использовался U-критерий Манн–Уитни (Mann–Whitney U-test). Точный критерий Фишера использовали для проверки статистической значимости факторов: $p \leq 0,05$ свидетельствовало о наличии статистически значимых различий, $p > 0,05$ – об отсутствии статистических различий [3].

Результаты и обсуждение / Results and Discussion

Клинико-анамнестическая характеристика исследуемых женщин

Клинико-анамнестические данные обследуемых пациенток представлены в Таблице 1.

Показатель	Исследуемые женщины					
	Физиологическая беременность (n=63)		Пациентки с поздней преэклампсией (n=15)		Здоровые небеременные женщины (n=45)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
ИМТ менее 18,5 кг/м^2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
ИМТ >18,5 кг/м^2, но <25 кг/м^2	60	95,2%	13	86,7	45	100,0
Избыточная масса тела >25 кг/м^2, но <30 кг/м^2	3	4,8%	2	13,3	0	0,0
Ожирение	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Группа крови 0	18	28,6	3	20	15	33,4
Группа крови A	28	44,4	7	46,7	16	35,6
Группа крови B	9	14,3	2	13,3	10	22,2
Группа крови AB	8	12,7	3	20	4	8,8
Беременности в анамнезе	28	44,4	5	33,3	17	37,8
Своевременные роды в	19	30	5	33,3	12	26,7

предыдущую беременность						
Преждевременные роды в предыдущую беременность	1	1,6	0	0	0	0
Аборт по желанию женщины	5	7,9	1	6,7	4	8,9
Самопроизвольный аборт	3	4,8	0	0	1	2,2
Лейомиома матки	4	6,3	0	0	1	2,2

Таблица 1. Характеристика обследованных женщин

На 1 этапе мы сравнивали показатели ADAMTS-13 и ФВ и их отношение у здоровых беременных женщин в 1,2, 3 триместрах по сравнению со здоровыми небеременными женщинами. В нашем исследовании мы выяснили что статистически значимые различия в уровне антигена ADAMTS-13, vWF и оси ADAMTS-13\vWF начинаются только со 2 триместра гестации, тк в первом триместре статистически значимых различий выявлено не было. В нашем исследовании мы демонстрируем, что уровень антигена vWF во II триместре физиологической беременности увеличился на 42%, а в III триместре на 51 % по сравнению со здоровыми небеременными. В III триместре антиген vWF колебался пределах от 0,782 до 2,203 Ед/мл и у 69,8% значения были выше референтных значений здоровых небеременных. Что же касается уровня антигена ADAMTS-13, то его снижение во II триместре отмечалось на 13%, по сравнению с группой здоровых небеременных женщин и на 17% в III триместре, при этом минимальное значение составило 0,453 Ед/мл, что находится в пределах референсных значений здоровых небеременных женщин. Но при сравнении относительно небеременных, у женщин с физиологическим течением беременности, особенно с увеличением срока гестации происходит снижение уровня ADAMTS-13, это говорит о том, что существует готовность к развитию микроангиопатических синдромов даже при физиологической беременности.

Что же касается оси ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag то во II триместре наблюдалось снижение оси на 50% и на 59% в III триместре, по сравнению со здоровыми небеременными. Все эти данные очень важны, так как если женщина вступает в беременность с уровнем ADAMTS-13:Ag по нижнем референсным значениям, то во II и III триместрах беременности, согласно нашим данным этот уровень может быть будет ниже пороговых значений.

При исследовании женщин, у которых после 34 недели развилась преэклампсия мы демонстрируем, что уже в I триместре, медиана антигена ADAMTS-13 имела

статистически значимую разницу между беременными с физиологическим течением и группой женщин у которых, после 34 недели развилась преэкламспия, при этом уровень антигена адамтс 13 снизился на 7,6%. Медиана антигена ФВ также имела статистически значимые различия между группами, однако важно понимать, что у большинства пациенток уровень фактора фон Виллебранда был в пределах нормативных значений, только у 1 пациентки с развившейся поздней преэклампсией уровень был выше (6,6%). При исследовании показателя отношения ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag было выявлено, что в группе женщин с физиологическим течением беременности, медиана этого показателя равнялась 0,976 , а в группе женщин, у которых в будущем развилась ПЭ 0,573 ($p<0,01$), а значение оси ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag снизился на 13,3% в I триместре у пациенток, у которых в будущем развилась преэклампсия.

Применение метода логистической регрессии с построением РОК-кривой показал , что отношение ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag может служить прогностическим маркером развития в дальнейшем ПЭ, с пороговым значением 0,587. Чувствительность и специфичность метода составили 80% и 87% соответственно. Площадь под ROC кривой, соответствующей взаимосвязи развития ПЭ и отношения ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag, достаточная и составила 0,952.

У 8 пациенток ADAMTS-13:Ag в III триместре был ниже значений при физиологической беременности, при этом минимальное значение у пациенток с развившейся преэклампсией составило 0,288 Ед/мл. Уровень vWF:Ag у пациенток с преэклампсией в конце III триместра увеличился в 1,7 раза, по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности. Значение отношения оси ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag при преэклампсии было достоверно ниже на 64,4% по сравнению с физиологически протекающей беременностью. И при физиологической беременности и при преэклампсии с увеличением срока беременности, происходит снижение ADAMTS-13:Ag и повышение ФВ, однако при ПЭ этот эффект усиливается в несколько раз.

Исследование оси ADAMTS-13/vWF у плодов

Мы проводили сравнение уровней ADAMTS-13, vWF и их отношения между плодами рожденными у матерей с физиологической беременностью и здоровыми взрослыми, чтобы посмотреть одинаково ли функционируют гемостаз у плодов у взрослых. А также нами проводилось сравнение между плодами рожденными у матерей с физиологическим течением беременности и у матерей с развившейся поздней ПЭ.

У плодов наблюдался другой профиль изменений показателей. В нашем исследовании мы получили следующие данные, что у плодов рожденных у матерей с физиологическим течением беременности и у матерей с ПЭ, фактор фон Виллебранда был

выше, по сравнению со взрослыми. Антиген ФВ был выше на 6,32% у плодов, рожденных от матерей с физиологическим течением беременности, по сравнению с взрослыми и на 2,5 % был выше у плодов, рожденных у матерей с ПЭ, по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности. Однако не было достоверных различий в уровне ADAMTS-13:Ag. Медиана отношения ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag была статистически значима между плодами, рожденными от женщин с физиологическим течением беременности 0,487 [0,377;0,592] и взрослыми здоровыми людьми 1,09 [0,913;1,28], Все это еще раз подчеркивает, что гемостаз взрослого и плода имеет существенные отличия и плодов происходит как бы одностороннее нарушение этого отношения вследствие увеличения уровня ФВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева, К.Н.. Особенности функционирования оси ADAMTS13/vWF в системе мать-плод: специальность: 3.1.4. акушерство и гинекология: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук /Григорьева Кристина Николаевна;ФГАОУ ВО Первыф МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) – Москва, 2023. – 102 с.
2. Obstetric outcomes in pregnant COVID-19 women: the imbalance of von Willebrand factor and ADAMTS13 axis / E. Grandone, A. Vimercati, F. Sorrentino [et al.] // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2022. – Vol. 22. – № 1. – P. 142.

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ ГЕМОСТАЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ

А.Б. Казумова[1], Н.В. Самбурова[1]

[1]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Казумова Аглая Борисовна – студент 3 курса, Институт стоматологии им. Е.В.Боровского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ORCID: 0009-0003-6481-6017

Самбурова Наталья Викторовна – к.м.н., доцент, доцент кафедры патофизиологии Института клинической медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ORCID: 0000-0002-4564-8439, SPIN: 9084-7676

Автор, ответственный за переписку:

Казумова Аглая Борисовна – студент 3 курса, Институт стоматологии им. Е.В.Боровского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: aglaya.kazumowa@yandex.ru, +7 985 299 54 52

Аннотация. В последнее десятилетие все больше исследований сообщают о наличии у пациенток, страдающих такими осложнениями беременности и родов, как повторные потери плода, мертворождение, задержка внутриутробного развития и преэклампсия, врожденной тромботической тромбоцитопенической пурпуры. Такая патология требует особенного подхода в диагностике и терапии. Синдром Апшоу-Шульмана (USS) – редко регистрируемая врожденная форма тромботической тромбоцитопенической пурпуры (TTP), возникающая в результате мутаций в гене металлопротеиназы ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with a ThromboSpondin type 1 motif, member 13), расщепляющей фактор фон Виллебранда (vWF). Недостаточность ADAMTS13 потенциирует микротромбоз сосудов, вызванного задержкой ультравысокомолекулярных мультимеров vWF в кровеносном русле. Согласно последним исследованиям с участием беременных женщин, неоднородность проявлений затруднила диагностику этой патологии. Заболевание возникает неожиданно и связано с повышенным риском смерти матери и плода. Цель исследования – провести анализ актуальности диагностики генетического дефекта ADAMTS13 при синдроме Апшоу-Шульмана, определить практичность и продуктивность технологий, применяемых для терапии возникающих акушерских осложнений.

Был проведен обзор современной российской и зарубежной, преимущественно англоязычной, литературы, посвященной диагностике и лечению врожденной тромбоцитопенической пурпуры, а также профилактике сопутствующих осложнений беременности и родов. Учитывались новейшие издания, опубликованные в специализированных медицинских журналах и руководствах. В этом обзоре будут выделены основные патогенетические механизмы развития и прогрессирования синдрома, текущие тенденции ведения пациенток, страдающих репродуктивной недостаточностью в ассоциации с синдромом Апшоу-Шульмана, и охарактеризованы современные группы фармакологических препаратов выбора, методики терапии. Фактическое лечение первой линии ограниченно и по-прежнему безуспешно в 30% случаев. Правильная стратегия терапии пациенток с повышенном риском невынашивания беременности и нацеленность на профилактику неблагоприятных исходов способствуют снижению частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, обусловленных генетическим дефектом. Беременность с синдромом Апшоу-Шульмана станет одной из основных областей акушерских разработок в ближайшие годы, необходимы дальнейшие ассоциативные и высококачественные исследования для формирования лучших терапевтических инноваций и возможностей в будущем.
Ключевые слова: тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; синдром Апшоу-Шульмана; фактор фон Виллебранда; ADAMTS13; сосудистый микротромбоз; беременность; плацента.

Введение. Тромбоцитопеническая пурпура (TTP) – редкая и смертельная патология, характеризующаяся агрессивным течением, тромбоцитопенией и гемолитической анемией с клиническими последствиями тромбоза [3]. TTP вызвана дефицитом металлопротеиназы ADAMTS13 (*A D*isintegrin *A*nd *M*etalloproteinase with a *T*hrombo*S*pondin type 1 motif, member *13*), расщепляющей фактор фон Виллебранда (vWF). ADAMTS13 – критически важный фермент, который синтезируется в звездчатых клетках печени (перисинусоидальных липоцитах Ито) [1].
Синдром Апшоу-Шульмана (USS) – редко регистрируемая врожденная форма тромботической тромбоцитопенической пурпуры (TTP), возникающая в результате мутаций в гене ADAMTS13 [7]. Недостаточность ADAMTS13 потенциирует микротромбоз сосудов, вызванного задержкой ультравысокомолекулярных мультимеров vWF в кровеносном русле [19]. Согласно последним исследованиям с участием беременных женщин, неоднородность проявлений затруднила диагностику этой патологии. Заболевание возникает неожиданно и связано с повышенным риском смерти матери и плода [4]. Подчеркивается необходимость ежемесячного мониторинга ADAMTS13 на предмет рецидивов, при этом профилактика имеет первостепенное значение для предотвращения материнской и внутриутробной смертности [1, 3, 10].

Цель и задачи. Цель исследования – провести анализ актуальности диагностики генетического дефекта ADAMTS13 при синдром Апшоу-Шульмана, определить практичность и продуктивность технологий, применяемых для терапии возникающих акушерских осложнений.

Материалы и методы. Был проведен компьютерный поиск литературы с использованием баз данных PubMed, EMBASE, Medline, Scopus, ScienceDirect, Google Scholar и Web of Science, внимание сосредоточено на последних разработках в области диагностики и терапии. Использованы ключевые слова тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; синдром Апшоу-Шульмана; фактор фон Виллебранда; ADAMTS13; сосудистый микротромбоз; беременность; плацента. Исследования, которые соответствовали критериям и являлись проспективными, многоцентровыми и рандомизированными, были систематически изучены.

Результаты и обсуждение. По эпидемиологическим данным половина страдающих ТТР женщин беременны или находятся в послеродовом периоде. Распространенность, согласно последнему межотраслевому исследованию с использованием мета-анализа, составила 13 случаев на 1 миллион человек в Европе и 19 случаев на 1 миллион человек в Соединенных Штатах Америки [14, 26].

Патогенетический механизм ТТР представлен либо дефицитом протеазы, обусловленным мутацией гена ADAMTS13 (синдром Апшоу-Шульмана), либо выработкой специфических ингибирующих аутоантител, то есть иммунной аутоагрессией. Приобретенная ТТР с аутоантителами и тяжелым дефицитом ADAMTS13 (<10%) является достаточно частой формой этого заболевания: было показано, что белки, обнаруженные в плацентарном кровообращении, могут служить материнскими триггерами для выработки аутоантител к ADAMTS13 и быть связаными с осложнениями беременности; но генетическая форма заболевания не менее распространена [12, 19, 27].

ADAMTS13 относится к цинковым металлопротеазам и в основном экспрессируется в звездчатых клетках печени и эндотелиальных клетках, но также обнаруживается и в других типах клеток, таких как тромбоциты, подоциты почек и нейроны головного мозга. Протеаза имеет несколько белковых доменов [12, 18, 24]:

- Сигнальный пептид, который взаимодействует с мембранными фосфолипидами и белковыми компонентами внутри клеток и играет роль в секреции, сворачивании и стабильности белка ADAMTS13;
- Активный сайт VWF-A2, который расщепляет vWF в домене A2;
- Спейсерный домен, который распознает vWF, увеличивая сродство ADAMTS13 к vWF;
- Дезинтегриноподобный домен, который участвует в низкоаффинном связывании;

- Повторы TSP1 дезинтегрина, которые опосредуют взаимодействия между белками внеклеточного матрикса;
- Домен, богатый цистеином, который отвечает за прикрепление, например, к интегринам различных клеточных мембран;
- Домены CUB, которые принимают участие в белок-белковых взаимодействиях с активными доменами и участвуют в секреции белка ADAMTS13.

Вызывающие заболевание мутации, которые можно обнаружить во всех доменах протеазы ADAMTS13, приводят преимущественно к нарушению секреции ADAMTS13 со сниженной активностью протеазы [17]. На сегодняшний день известно более 120 мутаций, вызывающих заболевание, и многочисленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Остаточная активность ADAMTS13 наблюдалась при определенных мутациях и, по-видимому, связана с более поздним началом заболевания. При этом было постулировано, что некоторые SNP взаимодействуют друг с другом и могут усиливать или снижать общую активность ADAMTS13 [17, 18]. Единственная известная роль ADAMTS13 заключается в расщеплении мультимеров vWF [12].

Физиологическая роль мультимерного vWF заключается в обеспечении адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу в условиях повреждения сосуда и гемодинамического стресса [2, 5, 23]. Низкомолекулярные фрагменты vWF, циркулирующие в системном кровотоке, обладают слабой способностью к связыванию с тромбоцитами и не проявляют гемостатическую активность. В то время как аффинность отдельных субъединиц vWF к тромбоцитам чрезвычайно мала, мультимеры vWF обеспечивают одновременно множество участков связывания с рецепторами Ib тромбоцитов, что позволяет значительно увеличить силу взаимодействия vWF-тромбоцит [19]. Мультимерные «ленты» vWF могут фиксироваться на поверхности мембран эндотелиальных клеток при помощи P-селектина, который секретируется из телец Weibel-Palade одновременно с vWF. Таким образом, в условиях абсолютного дефицита ADAMTS13 vWF находится в «необработанной» (сверхкрупной мультимерной) форме и микрососуды оказываются перекрыты гигантскими ультравысокомолекулярными vWF, на которых оседает все возрастающее количество тромбоцитов, образуя блокирующие микрососудистое русло тромбоцитарные тромбы [2, 5, 23]. Микроангиопатия приводит к фрагментации эритроцитов и образованию шизоцитов [27].

То есть, первыми клиническими признаками USS являются острая микроангиопатия, характеризующаяся микроангиопатической гемолитической анемией, тяжелой тромбоцитопенией и сосудистыми микротромбами [19, 27]. Как следствие, появляющиеся ишемические повреждения могут повреждать любой орган, в том числе и плаценту [11, 22].

Гистопатологический анализ плаценты может предоставить ценные данные о том, как происходит тромбоз сосудов и характерная микроангиопатия при ТТР [13, 30]. Гистопатология плаценты при стандартном окрашивании гематоксилином и эозином обнаруживает: наличие обтурационных затруднений кровотока, наиболее часто – внутривенного тромбоза, развивающегося в результате этих изменений ишемического некроза ворсинок, а также дистрофических диспротенинозов с отложениями фибриноида и участками межворсиновых кровоизлияний [6, 22, 30].

Результаты гистохимических и иммуногистохимических методов с использованием трихромного окрашивания Массона и антител против CTK AE1/AE3, β-ХГЧ и CD31 предоставили данные об агрессивности этого заболевания: множественные инфаркты плаценты, которые угрожают не только здоровью плода, но и матери, с возможностью развития осложнений, таких как преэклампсия и гемолиз, повышение уровня печеночных ферментов, тромбоцитопения (HELLP). Гибель плода может произойти из-за индуцированной гипоксии [6, 22, 30].

В доступной публикации описано, что патогистологический анализ образцов плацент женщин с ТТР выявил тромбоз, инфаркты и ремоделирование сосудистых стенок в ворсинках хориона и децидуальной оболочке, что указывает на нарушение кровоснабжения плода и матери, наблюдался синдром тромботического и микрососудистого повреждения [6, 22, 30].

В ходе исследования, проведенного в Италии, оценивали гистологические изменения в плацентах женщин с ТТР, свидетельствующие о сосудистой мальперфузии плода (FVM) или материнской сосудистой мальперфузии (MVM). Гистологический анализ выявил наличие в ворсинках хориона подострого тромбоза с ремоделированием сосудистой стенки и обширных инфарктов паренхимы с интервиллозитом. При этом плаценты контрольных женщин не имели гистологических изменений [6, 22, 30].

Кроме того, оценивалось воспалительное состояние плаценты по количеству фетальных макрофагов, известных как Клетки Хофбауэра, в паренхиме ворсинок хориона. Воспалительные изменения выявлены не были [6, 27, 30].

Распространенными факторами риска развития USS являются сепсис, неоплазия, прием антикоагулянтных препаратов, трансплантация органов и беременность [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

Физиологические и иммунологические изменения во время беременности связаны с уникальными проявлениями ТТР в этот период, которые еще предстоит полностью изучить с помощью междисциплинарных и многопрофильных исследований с участием акушеров, гематологов, анестезиологов, врачей-лаборантов и неонатологов [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

При акушерской форме ТТР острые осложнения чаще встречается у прежде не рожавщих женщин, так как у них уровень эстрадиола намного выше, чем у часто родящих [21]. Беременность сама по себе, а также послеродовой период с физиологической точки зрения

характеризуются как состояния прокоагуляции, которая также является фактором риска острой ТТР. Во время беременности изменения в системе гемостаза предрасполагают пациентку к гиперкоагуляции, которая постепенно нормализуется примерно через шесть недель после родов. Концентрация vWF значительно увеличивается в третьем триместре беременности, в то время как ADAMTS13 значительно снижается со второго триместра, и возвращается к оптимальным значениям только к третьей неделю после родов. Кроме того, эстрогенный контроль протеазы также играет особую роль [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

Осложнения со стороны матери и плода (задержка роста плода, преждевременные роды, гибель плода, инсульт у матери) как правило, распространены и могут быть тяжелыми для пациентки, а частота рецидивов максимальна и достигает 100% [4, 25, 29].

Большинство больниц технологически не оснащены для постановки правильного и полного диагноза: отсутствует диагностический набор ADAMTS13 [15]. Своевременный диагноз может спасти жизнь пациентки. Кроме того, тесты на тропонин и D-димер должны быть интегрированы в диагностический комплекс для правильной оценки ишемии при ТТР, наряду с определением активности ЛДГ и количественным подсчетом шизоцитов в мазке периферической крови. Была бы полезна разработка простого руководства с быстрым алгоритмом дифференциальной диагностики. Однако в настоящее время принятие терапевтического решения может быть отложено из-за легкости совершения ошибок при определении патологи ADAMTS13, что приводит к задержкам с серьезными последствиями для беременной [1, 3, 7, 10, 11, 13, 15, 22].

Лечение первой линии основано на клинических данных и состоит из плазмафереза и введения свежей или замороженной плазмы. Терапия низкомолекулярным гепарином (LMWH) для предотвращения тромбоза необходима во всех случаях. Если существует риск кровотечения, следует использовать переливание тромбоцитарной массы [7, 16, 20].

Иммуносупрессия выступает в качестве основного метода лечения и достигается введением глюкокортикостероидных препаратов или конкурентным ингибированием аутоантител к ADAMTS13 с помощью ритуксимаба в качестве первого (начального) этапа терапии [8, 9, 16].

Каплацизумаб – это гуманизированное моноклональное антитело, получаемое из плазмы крови лам. Каплацизумаб предотвращает взаимодействие vWF с тромбоцитами – препарат, специально одобренный для лечения ТТР на заре развития методик фармакологической коррекции. Имеется достаточно доказательств, позволяющих предположить, что каплацизумаб значительно ускоряет нормализацию количества тромбоцитов и снижает риск обострения [8, 16].

N-ацетилцистеин является антимуколитиком, который разрушает дисульфидные связи в vWF, что может уменьшить размер мультимеров vWF и их протромботический потенциал. N-ацетилцистеин ингибирует vWF-зависимую агрегацию тромбоцитов, но на данный момент фармацевтические испытания проходил только на животных [8, 16].

Что касается хирургического лечения, была рассмотрена возможность спленэктомии, и это возможный вариант для пациентов с хроническим рецидивом. Хотя ранее спленэктомия показала повышенный риск побочных явлений, усовершенствованная методика хирургических вмешательств значительно снизила количество осложнений, особенно при использовании лапароскопической техники [8, 16, 28].

Лечение должно быть скорректировано в соответствии с уровнями ADAMTS13, реакцией пациентки на лечение и тщательным акушерским обследованием, что потребует интеграции телемедицинских способов диагностики с использованием многопрофильного подхода. Врач-неонатолог для дальнейшей оценки состояния новорожденного является необходимым звеном в течение третьего триместра беременности [8, 16].

Наблюдение последующих беременностей и ежемесячный мониторинг ADAMTS13 на наличие признаков рецидива имеет ключевое значение [1, 3, 8, 10, 16, 22].

В настоящее время мы сталкиваемся с низкой или умеренной определенностью в отношении последовательности действий; недостаточно данных для определения наиболее эффективного терапевтического подхода. Требуются междисциплинарные рекомендации, а также инновационные методы лечения, хотя существуют ограничения в получении высококачественных данных о последних [1, 3, 8, 10, 16, 22].

Заключение. Акушеры и гинекологи должны знать о редком и смертельном заболевании – тромботической тромбоцитопенической пурпуре при синдроме Апшоу-Шульмана. Постановка правильного диагноза путем определения ADAMTS13 и проведения дополнительных анализов является решающим событием для достижения положительного результата. Настоятельно рекомендуется применять междисциплинарные подходы, чтобы снизить риск ошибочного диагноза.

Предпочтение отдается профилактике. Мониторинг уровня ADAMTS13 в сыворотке крови проводится при планировании последующей беременности.

Следует учитывать долгосрочные осложнения TTP: ишемические инсульты, вторичные гипертонии, ишемическую болезнь сердца, когнитивные отклонения и снижение качества жизни. Беременность с синдромом Апшоу-Шульмана станет одной из основных областей акушерских разработок в ближайшие годы, необходимы дальнейшие ассоциативные и высококачественные исследования для формирования лучших терапевтических инноваций и возможностей в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Galstyan G.M., Shmakov R.G., Klebanova E.E., Troitskaya V.V., Dvirnyk V.N., Surin V.L., Pshenichnikova O.S., Pozdnyakova Yu.M., Polushkina E.S., Gaponova T.V., Mamleeva S.Yu., Pyregov A.V., Rogachevskiy O.V., Sysoeva E.P., Tsvetaeva N.V. Thrombotic thrombocytopenic purpura in pregnancy. Giving birth or not giving birth, that is the question. Russian journal of hematology and transfusiology. 2022;67(1):42-61. Russian (Галстян Г.М., Шмаков Р.Г., Клебанова Е.Е., Троицкая В.В., Двирнык В.Н., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С., Познякова Ю.М., Полушкина Е.С., Гапонова Т.В., Мамлеева С.Ю., Пырегов А.В., Рогачевский О.В., Сысоева Е.П., Цветаева Н.В. Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура у беременных: родоразрешать нельзя прерывать. Где поставить запятую? Гематология и трансфузиология. 2022;67(1):42-61). doi: 10.35754/0234-5730-2022-67-1-42-61.
2. Grigoreva K.N., Bitsadze V.O., Khizroeva J.Kh., Tsibizova V.I., Tretyakova M.V., Blinov D.V., Pankratyeva L.L., Gashimova N.R., Yakubova F.E., Antonova A.S., Gris J., Elalamy I., Makatsariya A.D. Prognostic value of von Willebrand factor in clinical practice. Obstetrics, Gynecology and Reproduction. 2022;16(5):588–599. Russian (Григорьева К.Н., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Цибизова В.И., Третьякова М.В., Блинов Д.В., Панкратьева Л.Л., Гашимова Н.Р., Якубова Ф.Э., Антонова А.С., Гри Ж., Элалами И., Макацария А.Д. Прогностическое значение фактора фон Виллебранда в клинической практике. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2022;16(5):588–599). doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.363
3. Delmas Y, Helou S, Chabanier P, Ryman A, Pelluard F, Carles D, Boisseau P, Veyradier A, Horovitz J, Coppo P, Combe C. Incidence of obstetrical thrombotic thrombocytopenic purpura in a retrospective study within thrombocytopenic pregnant women. A difficult diagnosis and a treatable disease. BMC Pregnancy Childbirth. 2015 Jun 17;15:137. doi: 10.1186/s12884-015-0557-5. PMID: 26081109; PMCID: PMC4469004.
4. Ferrari B, Maino A, Lotta LA, Artoni A, Pontiggia S, Trisolini SM, Malato A, Rosendaal FR, Peyvandi F. Pregnancy complications in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: a case-control study. Orphanet J Rare Dis. 2014 Nov 28;9:193. doi: 10.1186/s13023-014-0193-6. PMID: 25431165; PMCID: PMC4279798.
5. Furlan M. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2003 Jul;1(2):243-55. doi: 10.1586/14779072.1.2.243. PMID: 15030284.
6. Gupta M, Feinberg BB, Burwick RM. Thrombotic microangiopathies of pregnancy: Differential diagnosis. Pregnancy Hypertens. 2018 Apr;12:29-34. doi: 10.1016/j.preghy.2018.02.007. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29674195.

7. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017 May 25;129(21):2836-2846. doi: 10.1182/blood-2016-10-709857. Epub 2017 Apr 17. PMID: 28416507.
8. Joly BS, Vanhoorelbeke K, Veyradier A. Understanding therapeutic targets in thrombotic thrombocytopenic purpura. Intensive Care Med. 2017 Sep;43(9):1398-1400. doi: 10.1007/s00134-016-4662-3. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28116452.
9. Kaneda Y, Kitagawa J, Yamaguchi K, Matsumoto T, Nakamura N, Nakamura H, Ninomiya S, Kanemura N, Kasahara S, Hara T, Shimizu M, Tsurumi H. Thrombotic thrombocytopenic purpura during pregnancy refractory to plasma exchange and rituximab. Rinsho Ketsueki. 2019;60(3):209-212. Japanese. doi: 10.11406/rinketsu.60.209. PMID: 31068517.
10. Kentouche K, Voigt A, Schleussner E, Schneppenheim R, Budde U, Beck JF, Stefańska-Windyga E, Windyga J. Pregnancy in Upshaw-Schulman syndrome. Hamostaseologie. 2013 May 29;33(2):144-8. doi: 10.5482/HAMO-13-04-0025. PMID: 23715104.
11. Kremer Hovinga JA, George JN. Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. N Engl J Med. 2019 Oct 24;381(17):1653-1662. doi: 10.1056/NEJMra1813013. PMID: 31644845.
12. Lotta LA, Wu HM, Mackie IJ, Noris M, Veyradier A, Scully MA, Remuzzi G, Coppo P, Liesner R, Donadelli R, Loirat C, Gibbs RA, Horne A, Yang S, Garagiola I, Musallam KM, Peyvandi F. Residual plasmatic activity of ADAMTS13 is correlated with phenotype severity in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2012 Jul 12;120(2):440-8. doi: 10.1182/blood-2012-01-403113. Epub 2012 Apr 23. PMID: 22529288; PMCID: PMC3721603.
13. Mansouri Taleghani M, von Krogh AS, Fujimura Y, George JN, Hrachovinová I, Knöbl PN, Quist-Paulsen P, Schneppenheim R, Lämmle B, Kremer Hovinga JA. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura and the hereditary TTP registry. Hamostaseologie. 2013 May 29;33(2):138-43. doi: 10.5482/HAMO-13-04-0026. PMID: 23715103.
14. Mariotte E, Azoulay E, Galicier L, Rondeau E, Zouiti F, Boisseau P, Poullin P, de Maistre E, Provôt F, Delmas Y, Perez P, Benhamou Y, Stepanian A, Coppo P, Veyradier A; French Reference Center for Thrombotic Microangiopathies. Epidemiology and pathophysiology of adulthood-onset thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency (thrombotic thrombocytopenic purpura): a cross-sectional analysis of the French national registry for thrombotic microangiopathy. Lancet Haematol. 2016 May;3(5):e237-45. doi: 10.1016/S2352-3026(16)30018-7. Epub 2016 Apr 16. PMID: 27132698.
15. Mitranovici MI, Pușcașiu L, Oală IE, Petre I, Craina ML, Mager AR, Vasile K, Chiorean DM, Sabău AH, Turdean SG, Cotoi OS. A Race against the Clock: A Case Report and Literature Review Concerning the Importance of ADAMTS13 Testing in Diagnosis and Management of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura during Pregnancy. Diagnostics (Basel). 2022 Jun 27;12(7):1559. doi: 10.3390/diagnostics12071559. PMID: 35885465; PMCID: PMC9323862.

16. Nonaka T, Yamaguchi M, Nishijima K, Moriyama M, Takakuwa K, Enomoto T. A successfully treated case of an acute presentation of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) with decreased ADAMTS13 during late stage of pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. 2021 May;47(5):1892-1897. doi: 10.1111/jog.14737. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33751717.
17. Plaimauer B, Fuhrmann J, Mohr G, Wernhart W, Bruno K, Ferrari S, Konetschny C, Antoine G, Rieger M, Scheiflinger F. Modulation of ADAMTS13 secretion and specific activity by a combination of common amino acid polymorphisms and a missense mutation. Blood. 2006 Jan 1;107(1):118-25. doi: 10.1182/blood-2005-06-2482. Epub 2005 Sep 13. PMID: 16160007.
18. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J, Greinacher A, Deckmyn H, De Meyer SF, Coppo P, Veyradier A, Vanhoorelbeke K. An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost. 2018 Feb;16(2):378-388. doi: 10.1111/jth.13922. Epub 2018 Jan 23. PMID: 29222940.
19. Sadler JE. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017 Sep 7;130(10):1181-1188. doi: 10.1182/blood-2017-04-636431. Epub 2017 Aug 2. PMID: 28768626; PMCID: PMC5606001.
20. Sakai K, Fujimura Y, Nagata Y, Higasa S, Moriyama M, Isonishi A, Konno M, Kajiwara M, Ogawa Y, Kaburagi S, Hara T, Kokame K, Miyata T, Hatakeyama K, Matsumoto M. Success and limitations of plasma treatment in pregnant women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost. 2020 Nov;18(11):2929-2941. doi: 10.1111/jth.15064. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33433066.
21. Sánchez-Luceros A, Farías CE, Amaral MM, Kempfer AC, Votta R, Marchese C, Salviú MJ, Woods AI, Meschengieser SS, Lazzari MA. von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in normal non-pregnant women, pregnant and post-delivery women. Thromb Haemost. 2004 Dec;92(6):1320-6. doi: 10.1160/TH03-11-0683. PMID: 15583740.
22. Scully M, Thomas M, Underwood M, Watson H, Langley K, Camilleri RS, Clark A, Creagh D, Rayment R, Mcdonald V, Roy A, Evans G, McGuckin S, Ni Ainle F, Maclean R, Lester W, Nash M, Scott R, O Brien P; collaborators of the UK TTP Registry. Thrombotic thrombocytopenic purpura and pregnancy: presentation, management, and subsequent pregnancy outcomes. Blood. 2014 Jul 10;124(2):211-9. doi: 10.1182/blood-2014-02-553131. Epub 2014 May 23. PMID: 24859360.
23. South K, Lane DA. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo. J Thromb Haemost. 2018 Jan;16(1):6-18. doi: 10.1111/jth.13898. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29108103; PMCID: PMC5814862.
24. South K, Luken BM, Crawley JT, Phillips R, Thomas M, Collins RF, Deforche L, Vanhoorelbeke K, Lane DA. Conformational activation of ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Dec 30;111(52):18578-83. doi: 10.1073/pnas.1411979112. Epub 2014 Dec 15. PMID: 25512499; PMCID: PMC4284544.
25. Tanaka H, Tenkumo C, Mori N, Kokame K, Fujimura Y, Hata T. Case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during

pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. 2014 Jan;40(1):247-9. doi: 10.1111/jog.12125. Epub 2013 Aug 12. PMID: 23937165.

26. Török TJ, Holman RC, Chorba TL. Increasing mortality from thrombotic thrombocytopenic purpura in the United States--analysis of national mortality data, 1968-1991. Am J Hematol. 1995 Oct;50(2):84-90. doi: 10.1002/ajh.2830500203. PMID: 7573005.
27. Tsai HM. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Int J Hematol. 2010 Jan;91(1):1-19. doi: 10.1007/s12185-009-0476-1. PMID: 20058209; PMCID: PMC3159000.
28. Umemura A, Sasaki A, Nitta H, Obuchi T, Baba S, Wakabayashi G. Laparoscopic splenectomy for the treatment of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. Clin J Gastroenterol. 2013 Dec;6(6):420-3. doi: 10.1007/s12328-013-0419-5. Epub 2013 Sep 7. PMID: 26182130.
29. von Krogh AS, Kremer Hovinga JA, Tjønnfjord GE, Ringen IM, Lämmle B, Waage A, Quist-Paulsen P. The impact of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura on pregnancy complications. Thromb Haemost. 2014 Jun;111(6):1180-3. doi: 10.1160/TH13-08-0713. Epub 2014 Feb 6. PMID: 24499950.
30. Yamamoto T, Fujimura Y, Emoto Y, Kuriu Y, Iino M, Matoba R. Autopsy case of sudden maternal death from thrombotic thrombocytopenic purpura. J Obstet Gynaecol Res. 2013 Jan;39(1):351-4. doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.01941.x. Epub 2012 Jul 6. PMID: 22765161.

СОВРЕМЕННЫЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ У БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ ТРАХЕЛЭКТОМИИ

Автор: О.С. Диль (Olga Sergeevna Dil), врач-онколог отделения гинекологии
НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН

Соавторы: А.А. Черняков (Alexander Alekseevich Chernyakov) врач-ординатор 2ого года
НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН

Научный руководитель: А.Л. Чернышова (Alena Leonidovna Chernyshova), д.м.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник отделения гинекологии
НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН

Рак шейки матки (РШМ) занимает первое место в структуре онкогинекологической патологии женщин репродуктивного возраста. [1] Согласно современным рекомендациям лечения онкологических больных единственной безопасной альтернативой радикальной гистерэктомии, признанной Национальной комплексной онкологической сетью (NCCN) в качестве стандарта лечения, сохраняющего фертильность для пациенток с РШМ, является радикальная трахелэктомия (РТ). [2] Качество жизни является вторым по значимости показателем эффективности лечения онкологических больных после общей выживаемости, обойдя по важности показатель объективного ответа. Именно качество жизни является основным критерием оценки эффективности лечения в случае, когда достоверной разницы в выживаемости между группами больных после радикального лечения не получено. [3]

Всего проведено 116 хирургических вмешательств с использованием технологий, разработанных в Томском НИИ онкологии. Средний возраст пациенток составил 33,2 года. Детально изучались особенности социального статуса и репродуктивных намерений. Качество жизни оценивалось с использованием анкет EORTC QLQC30, QLQ-CX24, FACT-G, по шкале Ч.Д. Спилбергера - Ю.Л. Ханина. Анкетирование проводилось до операции, через 3, 6, 12, 18 месяцев после лечения в объеме РТ в сравнении с больными после операции Вертгейма с транспозицией яичников. Проведен анализ полученных результатов, оценка онкологической и репродуктивной эффективности.

Результаты

По результатам опросника QLQC30 (EORTC) приведена сравнительная оценка общего состояния. Сразу после операции и на протяжении полугода не были получены значимые отличия по показателям физического, эмоционального состояния, когнитивной функции и социальной адаптации у больных всех групп. Однако при дальнейшем

наблюдении выявилена тенденция к улучшению исследуемых показателей по всем функциональным шкалам у больных после радикальной трахелэктомии.

n	медиана		min		max		mean		Standard deviation	
	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ
Global health status (GHS)	78	66*	29,9	34,5*	100	66*	75,5	54,7*	15,8	11,8*
Функциональные шкалы										
Физическое состояние	100	75*	97	44*	100	64,4*	97,7	76,5*	6,4	9,1*
Эмоциональное состояние	85,9	65*	43,6	25,8*	100	76*	97,9	75,4*	18,8	11,2*
Когнитивные функции	100	66*	58	43,1*	100	82*	89,9	77,5*	15,6	10,2*
Социальная адаптация	100	81*	88,1	65,2*	100	72,5*	19,7	12,1*	14,9	10,0*
Общие симптомы: усталость, утомляемость	11,8	9,3*	2	1*	59,7	32,4*	19,8	11,2*	6,6	3,5*
Болевой синдром	0	50*	0	33*	0	56*	14,6	11,9*	5,7	2,9*

Результаты анкетирования по опроснику QLQCX24 (EORTC), специфичному для больных РШМ, показали что достаточно часто встречающиеся симптомы и расстройства сексуальной сферы (снижение сексуальной активности и сексуального удовольствия) были более выражены сразу после операции в обеих группах, однако уже через полгода уменьшились у женщин после РТ, но продолжали оставаться на прежнем, достаточно низком уровне, либо продолжали ухудшаться в группе после ОВ, что позволяет предположить, что сохранение фертильности ослабляет сексуальные расстройства. А наиболее часто встречающиеся симптомы менее выражены у больных после органосохраняющего лечения.

n	медиана		min		max		mean		Standard deviation	
	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ	РТ	ОВ
Шкалы симптомов										
Тревожность	8,7	16,8*	0	12*	2	22,1*	11,2	18,9*	8,8	14,2*
Изменение ИМТ	14,1	27,3*	0	4*	50	98*	11,2	16,5*	6,4	9,1*
Наличие цистоцеле	3	6*	0	0	43	100*	24,9	75,4*	31,8	14,3*
Периферическая нейропатия	1	5*	0	0	56	100*	89,9	77,5*	15,6	10,2*
Сексуальные расстройства										
Снижение сексуальной активности	1	33*	0	32*	0	66,8*	19,8	11,2*	6,6	7,5
Снижение сексуального удовольствия	0	50*	0	33*	0	50*	14,6	12,9*	1,7	3,9*

Данные по результатам опросника FACT-G: во время лечения отмечалась отрицательная динамика показателей во всех группах, но после окончания лечения показатели были значительно выше в группах после радикальной трахелэктомии. Такая тенденция отмечена во всех сферах, но наиболее выраженная динамика отмечена по шкале эмоционального благополучия, что связано с появившейся надеждой не только на выздоровление, но и на будущее деторождение. Необходимо отметить, что при мониторинге показателей через 12 месяцев после лечения отмечается снижение

показателей качества жизни по шкале «социально-семейные взаимоотношения» в группе больных после ОВ.

Динамика показателей шкал FACT-G у больных РШМ (баллы):
А – физической; Б – функциональной; В – эмоциональной; Г - социально-семейной

Оценка уровня тревожности по шкале Ч.Д. Спилберга в модификации Ю.А. Ханина показала достаточно достаточно высокий уровень тревожности во всех группах больных. После проведения лечения и выписки из стационара больные чувствуют облегчение, появление надежды на излечение. Что подтверждает важное значение поддержки семьи и общества на всех этапах лечения и реабилитации.

Метод лечения	Этапы исследования				
	до операции	через 3 месяца	через 12 месяцев	через 18 месяцев	p
Радикальная трансабдоминальная трахелэктомия (n=55)	26,9±3,2	14,8±2,1	12,5±2,2	10,1±0,9	
Радикальная трахелэктомия Лапароскопия (n=55)	25,3±2,9	12±1,8	9±1,1	11,2±1,7	
Операция Вертгейма с транспозицией яичников (n=45)	44,7±5,1	36,3±4,5*	41,1±6,1*	22,8±3,9*	≤0,05

Согласно литературным данным на сегодняшний день существует небольшое количество источников, описывающих исследование качества жизни после радикальной трахелэктомии и результаты сопоставимы с данными нашего исследования.

Особенности течения беременности и перинатального периода у больных раком шейки матки после РТ

За период с апреля 2010г по настоящее время в нашем отделении проведено 116 операции в объеме радикальной трахелэктомии, из них 61 трансабдоминальным доступом и 55 лапароскопическим.[4,5].

Variables	PAT	JPT	P-value	Adjusted P-value
Количество операций	61	55	-	-
возраст	32±3,9	31,2±3,15	0,178	NS
Количество беременностей:	22	21	-	-
-спонтанных	17	18	-	-
-после ВРТ	5	3	-	-
Срок наступления беременности после РТ, мес.	48(56,8)	12(19,8)	0,405	NS
Овариальный резерв (уровень АМГ)	5(11,1)	2(3,7)	0,31	NS
Репродуктивный потенциал	78(91,2)	89(94,1)	0,489	NS
Исходы беременностей				
-роды	14	11	-	-
-выкидыши	1	1	-	-
-аборты	7	5	-	-
Угроза прерывания беременности	2	2	-	-
Проведение токолитической терапии во время беременности	4	5	-	-
Вес новорожденных	2600±320	2120±175	0,412	NS
Оценка по шкале Апгар	7	8	-	-
Срок родоразрешения	35±4,1	27±3,5	0,124	NS
Стеноз внутреннего зева	0	0	-	-

По данным анкетирования, которое мы провели среди данной категории больных, которым по онкологическим показаниям была разрешена беременность, репродуктивную функцию решили реализовать лишь 57 (51%) пациенток. Причиной данной ситуации является различные послеоперационные психологические и сексуальные расстройства, такие как:

- Страх после перенесенного лечения за здоровье ребенка;
- Страх рецидива;
- Отсутствие супруга или полового партнера.

Репродуктивные результаты

Всего зарегистрировано 43 беременностей.

- 25 – роды
- 2 – самопроизвольные выкидыши (21 неделя и малый срок)
- 11 – медикаментозный «бархатный» аборт
- 5 пациенток находятся в процессе ВРТ – ЭКО, ЭКО/ИКСИ в отделении репродуктивных технологий СибГМУ.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование показало, что внедрение методики РТ для лечения РШМ женщин репродуктивного возраста значительно улучшает качество жизни больных после перенесенного лечения; высокотехнологичные методики, разработанные в НИИ онкологии Томского НИМЦ [6], позволяют существенно улучшить онкологические и репродуктивные результаты проведения органосохраняющего лечения; качество жизни больных после радикальной трахелэктомии значительно лучше по всем изученным параметрам по сравнению с больными после радикальной гистерэктомии с транспозицией яичников, следовательно сохранение репродуктивной функции благоприятно отражается на субъективной оценке женщины своего состояния благополучия, ее сексуальной функции и как следствие на отношениях с супругом/половым партнером и способствует будущему деторождению.

ЛИТЕРАТУРА

1) Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. − М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. − илл. – 239 с. ISBN 978-5-85502-283-4.
2) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Cervical Cancer Version 1.2024 — September 20, 2023
3) Li C. Quality of life in long-term survivors of cervical cancer// Maturitas. 1999. Vol. 32, № 2. P. 95–102.)
4) Радикальная трахелэктомия: 10-летний опыт Томского НИИ онкологии / А. Л. Чернышова, Л. А. Коломиец, В. Э. Гюнтер, Е. С. Марченко // Вопросы онкологии. – 2019. – Т. 65, № 5. – С. 715-720. – EDN WOGTGZ.
5) Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Трущук Ю.М., Диль О.С., Чернов В.И., Марченко Е.С., Чекалкин Т.Л., Антипов В.А., Красильников С.Э. Оценка репродуктивных результатов и качества жизни у больных после радикальной трахелэктомии. Опухоли женской репродуктивной системы. 2022;18(2):77-85.
6) Выявление сторожевых лимфатических узлов при органосохраняющем лечении инвазивного рака шейки матки / А. Л. Чернышова, Л. А. Коломиец, В. И. Чернов, И. Г. Синилкин // Сибирский онкологический журнал. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 82-91. – DOI 10.21294/1814-48612018-17-1-82-91. – EDN VXJDJR.

ТЕХНОЛОГИИ СОВРЕМЕННОЙ ТРЁХМЕРНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ВНУТРИМАТОЧНЫХ СИНЕХИЙ

И.А. Есипова, к.м.н., доцент

Кафедра акушерства и гинекологии имени академика Г.М. Савельевой педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

В настоящее время медицинское сообщество сталкивается с глобальной проблемой снижения репродуктивного потенциала. С одной стороны, повсеместное внедрение таких современных органосохраняющих методик, как эмболизация маточных артерий, различные миомэктомии, широкое неконтролируемое применение внутриматочной электрохирургии используются для сохранения фертильности, с другой стороны, они все чаще становятся причиной формирования фиброзирования полости матки и невозможности реализации ни менструальной, ни репродуктивной функции. Любые гинекологические хирургические манипуляции, связанные с беременностью и её осложнениями, составляют наибольший процент в структуре формирования внутриматочных синехий и отсутствует тенденция к снижению данных операций. Длительно время, внутриматочные синехии были лишь единичными наблюдениями. Однако, за последние два десятилетия фиксируется всплеск данного заболевания и процент его в структуре бесплодия на данный момент уже достигает 15% [1,2]. Внутриматочные синехии (ВМС), являются результатом травмирования базального слоя эндометрия и замещения его фиброзной тканью с формированием разной степени выраженности облитерации полости матки, что ведёт к снижению не только репродуктивной функции, но и к прекращению менструальной [3]. А возникновение синдрома Ашермана, приводит пациентку к тотальной инфертильности. Изменённые характеристики эндометрия напрямую связаны с характером менструальной функции, а снижение рецептивного аппарата приводит к редукции возможности имплантации бластоцисты, делая невозможным факт наступления беременности или её прогрессирование. Затруднённая диагностика и нерешенный вопрос хирургического лечения ВМС является актуальной проблемой врачей ультразвуковой диагностики, акушеров - гинекологов и репродуктологов. Отсутствие мультидисциплинарного подхода к пониманию данной патологии приводит к снижению вероятности своевременной адекватной их коррекции и отдалению сроков восстановления и реализации репродуктивной функции.

Формирование замкнутых внутриматочных полостей, недоступность эндометрия для эндоскопического и гистологического обследования приводит к увеличению риска злокачественной трансформации эндометрия, снижению вероятности ранней диагностики рака в том числе в репродуктивном возрасте что также не способствует повышению фертильности населения.

Не типичная, порой выраженно измененная анатомия полости матки является фактором, снижающим чувствительность и специфичность рутинного ультразвукового исследования [4]. Хирургическая коррекция ВМС сочетается с самым высоким риском перфорации матки из-за отсутствия адекватных внутриполостных ориентиров безопасного выполнения хирургического вмешательства. Отсроченная диагностика ВМС, приводит к тотальному фиброзированию полости матки из -за прогрессии заболевания, когда не только гистероскопическая коррекция, но и гистероскопическое обследование полости матки становится маловозможным и требует проведения радикальных объемов хирургического лечения.

Такие клинические проявления данного заболевания как нарушение менструального цикла и фертильности, возможный синдром хронических тазовых болей, повторные хирургические вмешательства снижают социальную активность пациентки и инициируют выраженные изменения ее психологического статуса.

В связи с чем, целью нашего исследования стало формирование стандартизированного алгоритма диагностики и лечения внутриматочных синехий с использованием возможностей трёхмерной визуализации и высокотехнологичной хирургии для сохранения фертильности и нормализации менструальной функции у женщин социально значимого возраста.

В работу вошли 230 пациенток с диагностированными внутриматочными синехиями от 21 до 49 лет.

Основными симптомами, инициирующими визит к врачу, стали: олиго(опсоменорея) у 62% обследованных, аномальные маточные кровотечения в виде метроррагии у 12%, аменорея у 25%, альгодисменорея у 38%, синдром хронических тазовых болей был диагностирован у 26%. В 67 % наблюдениях - было сочетание различных жалоб. Однако, самой частой причиной (82%) обращения к гинекологу или врачу-репродуктологу стало бесплодие различной степени давности. Следует отметить наличие высокого процента в анамнезе различных оперативных вмешательств (97%). У пациенток с ВМС были вмешательства по поводу замершей беременности (34%), аборты в 28%, кесарево сечение – 14%, ручное отделение плаценты и выделение последа в 12%. Особый вклад в развитие облитерации полости матки, особенно у пациенток с формированием истинного синдрома Ашермана привносят вмешательства в раннем и позднем послеродовых периодах, выполняемых в объеме вакуум аспирации содержимого полости матки в сочетании или без проведения эмболизации маточных артерий по поводу остатков плацентарной ткани, выполнение которых часто сочетается с профузным интраоперационным кровотечением, требующим проведение ЭМА (6,5%). У 7% пациенток в анамнезе было указание на гистерорезектоскопию, биполярную резекцию плацентарных полипов эндометрия. Особую роль также играют различные гистероскопические методики, связанные с применением биполярной электрохирургии. Так, у 12% обследованных, в анамнезе

были указания на проведение гистерорезектоскопии, резекции узлов миомы 1 и 2 типов, сочетание контралатерального расположения узлов различного типа, а также проведение гистерорезектоскопии миомы матки после ранее проведенной эмболизации маточных артерий. У 24 пациенток (10%) – в анамнезе уже были проведенные биполярные резекции ВМС . Не могут не обращать на себя внимание трансабдоминальные миомэктомии с применением энергии и вскрытием полости матки. В нашем исследовании мы диагностировали облитерацию полости матки I степени после роботической и консервативной миомэктомии в 1,3% и 2,1% наблюдениях, соответственно, у которых было произведено непреднамеренное вскрытие полости матки. Важным считаем отметить, что практически все пациентки, включенные в наше исследование, перенесли однократные или многократные внутриматочные хирургические вмешательства, приведшие к формированию облитерации полости. Невозможно не сделать акцент на практически тотальном отсутствии превентивных послеоперационных мер, направленных на профилактику формирования ВМС.

Существующие различные эндоскопические классификации, к сожалению, весьма ограничены возможностями лишь интраоперационного обследования полости. Мы создали современный диагностический алгоритм, основанный на балльной оценке параллельных возможностей трёхмерной ультразвуковой объемной визуализации и гистероскопии, учитывая сложный патогенез заболевания, выражающийся не только в анатомическом нарушении формы полости матки, в структурных и функциональных изменениях со стороны эндометрия, но и сопровождающимся изменениями субэндометриальной зоны (СЭЗ), инициирующим изменение перистальтики миометрия, снижение васкуляризации эндометриальных и СЭЗ.

Первые в мире, мы разработали чёткие высокочувствительные трёхмерные ультразвуковые паттерны, и адаптировали их к наиболее удобной и ёмкой классификации внутриматочных синехий (ESH, 1989), для их ранней диагностики и выявления степени поражения полости матки. На основании полученных трёхмерных эхограмм и создания объёмной модели архитектоники полости матки (см. Рисунок) мы получили своеобразную «навигационную карту» для выбора метода хирургического вмешательства.

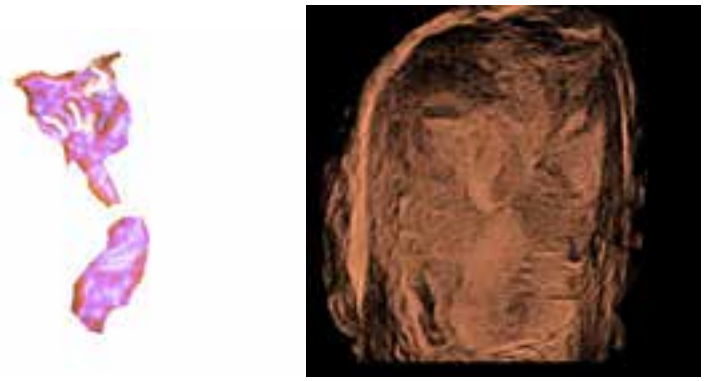


Рисунок. Объемная модель полости матки на основании трёхмерной эхограммы

Базовая и дополненная контрастированием полости трёхмерная эхография позволили нам создать *объёмные качественные и количественные дескрипторы ВМС,* позволившие также соотнести пациенток относительно степени облитерации.

Количественными паттернами стали: объём и динамические изменения эндометрия в I и II фазу цикла, а также показатели давления гистеропомпы, позволяющие получить адекватно растяжимую полость матки при проведении контрастирования полости матки, а также степень ригидности стенок матки при введение в неё жидкости, степень васкуляризации эндометрия и СЭЗ.

К **качественным** паттернам мы отнесли:

- получение измененной полости матки во фронтальном срезе в виде получения характерных форм: Y, V, Г, Т – образные, в виде туннеля, «песочных часов», полигональные или в виде политопа;
- визуализация основных внутриполостных ориентиров – внутренний зев, дно полости матки, устья маточных труб;
- регистрация различных дополнительных внутриполостных структур, дезорганизующие её;
- эхогенность самих синехий и наличие эффекта затемнения;
- локальные или диффузные изменения в субэндометриальной зоне (СЭЗ).

На втором этапе исследования при проведении гистероскопии мы также основывались на следующих *разработанных качественных и количественных эндоскопических дескрипторах:* наличие атрезии внутреннего зева и облитерации полости матки, возможность визуализации основных анатомических ориентиров полости - устьев маточных труб и перешейка, визуализация и качество определяемого эндометрия, количество, характер и плотность синехий, эластичность полости матки и визуализация перистальтики миометрия, необходимость интраоперационной УЗ-навигации.

В условиях фиброзирования полости матки снижается диагностическая ценность стандартной эндоскопии и зачастую, создается иллюзия понимания ее анатомии. Это влечет за собой нецелесообразное, а возможно и чрезмерно агрессивное использование типичных хирургических энергий, не приводящих к ожидаемому результату. Все это заставляет искать более эффективные, безопасные , а главное – рациональные подходы к диагностике и лечению ВМС, а следовательно, и маточного фактора бесплодия.

В связи с вышеизложенным, мы создали комбинированную балльную эхографическо – эндоскопическую систему оценки внутриматочных синехий, благодаря которой мы смогли ранжировать пациенток по методу выбора того или иного хирургического объёма,

прогнозировать этапность оперативных вмешательств, нивелировать интраоперационные осложнения и корректировать послеоперационное лечение (Таблица №1).

Таблица №1. Комбинированная балльная эхографическо-эндоскопическая система оценки внутриматочных синехий

Интерпретируемый Критерий	**Баллы**		
	0	**1**	**2**
Ультразвуковые критерии			
Давление эндомата при контрастировнии (мм рт. ст.)	До 100	100-200	Более 200
V эндометрия	Соответствует фазе цикла	≥50% и с «+» динамическими изменениями	<50% и с «-» динамическими изменениями
Растяжимость полости (линейный размер серозометры)	Более 10 мм	2-10 мм	До 2 мм
Васкуляризация эндометрия	Активная	Сниженная	Отсутствует
Форма полости матки	Треугольная	Изменения по типу «песочных часов» и их варианты	Сложные формы полости (политоп и другие)
Нормальные анатомические ориентиры	Визуализируются полностью	Визуализируются частично	Не визуализируются
Аномальные внутриполостные структуры	<25% объема полости матки	25-50% объема полости матки	≥50% объема полости матки
Эхогенность внутриполостных структур	Гипо(средне)эхогенная без акустической тени	Гиперэхогенная без акустической тени	Гиперэхогенная с акустической тенью
Анатомия СЭЗ	Типичная	Фрагментарные изменения	Тотальные изменения

Эндоскопические критерии			
Атрезия внутреннего зева	Нет	Частичное сужение	Тотальная
Облитерация полости матки	Нет	Частичная в виде замкнутых полостей	Тотальное фиброзирование
Визуализация основных ориентиров полости матки	Адекватная визуализация	Фрагментарное отсутствие одного из ориентиров	Тотальное отсутствие ориентиров
Визуализация неизмененного эндометрия	По всему периметру	Островки	Отсутствие и замещение фиброзной тканью
Плотность синехий	Нежная, саморазрушаемая потоком жидкости	Эластичная	Плотная фиброзная
Поверхность синехий	Эпителизированная васкуляризованная	Эпителизированная неваскуляризованная	Фиброзная белесая
Эластичность полости матки при подаче жидкости	Адекватно растяжимая на всем протяжении	Неадекватно растяжимая фрагментарно	Тотально нерастяжимая
Перистальтика миометрия	Адекватная	Сниженная фрагментарно	Тотально отсутствующая
Сопутствующая патология полости матки	Отсутствует	Полип / гиперплазия эндометрия	Миома матки (0-2 тип)

Всем пациенткам с грубой облитерацией полости матки сопоставление данных трёхмерной эхографии и гистероскопической картины проводилось интраоперационно: благодаря трёхмерной вагинальной эхографии и параллельно введенному гистероскопу в полость матки.

Длительный опыт использования различных вариантов внутриматочной хирургии-механические ножницы, лазерная хирургия, биполярная энергия с использованием различных

электродов – позволили оценить их преимущества и недостатки и применить наиболее подходящий в той или иной клинической и анатомической ситуации (Таблица №2).

Таблица №2. Сравнительный анализ различных хирургических методов лечения ВМС

Параметр	**Метод коррекции**		
	Механические ножницы	**Лазерная энергия**	**Биполярный электрод (игольчатый / петля)**
Необходимость расширения цервикального канала	Нет - возможность использования стандартного и офисного гистероскопа	Нет - возможность использования стандартного и офисного гистероскопа	Требуется расширение до Гегара №10,5
Диаметр операционного тубуса	3 мм или 5,5 мм	3 мм или 5,5 мм	10 мм
Преимущества метода	Отсутствие термического воздействия на ткани. Контролируемая глубина работы инструмента. Относительная безопасность. Отсутствие воздействия на СЭЗ	Отсутствие карбонизации тканей. Контролируемая глубина работы энергии. Отсутствие избыточного парообразования в полости матки, создающего дополнительное термическое воздействие и затрудняющее визуальный контроль. Стимулирующее воздействие на базальный слой. Отсутствие воздействия на СЭЗ	Возможность быстрого удаления значительного объема патологической ткани. Наиболее качественная визуализация. Рутинное применение. Возможность одномоментного удаления сопутствующих полипов эндометрия.

			Инородных тел и узлов миомы
Возможные осложнения и ограничения	Не наблюдалось. Невозможность коррекции грубых фиброзных сращений. Отсутствие хирургического гемостаза	Не наблюдалось. Сложность коррекции латеральных сращений и работы в области устьев маточных труб. Длительность и кропотливость операции	Расслоение стенки шейки матки или разволокнение волокон миометрия. Не контролируемое термическое воздействие на ткани вне рабочих зон и рецидив заболевания

На основании балльной интерпретации данных, полученных в ходе нашего исследования, а также используя отработанные и оцененные нами возможности и недостатки того или иного вида хирургического лечения, мы *разработали следующий алгоритм хирургического лечения*: при получении баллов от 0 до 9 оптимальными методами лечения могут быть изолированное применение лазерной диодной коррекции, а при её отсутствии – механическое разделение синехий (ножницами, введёнными через операционный канал) при использовании стандартного или офисного гистероскопа. Лазерную коррекцию мы производили при помощи диодного лазера с длиной волны 750 нм, используя непрерывный или импульсно-периодический режим с мощность излучения от 18 до 23 мкВт. При совокупной оценке в 9-24 балла целесообразным будет совместное поочередное использование лазерного и механического хирургического методов, также при помощи стандартных или офисных жёстких гистероскопов.

При выявлении объективно тяжёлых форм облитерации полости матки и получении более 24 баллов оценки – использование лазера и механических методов нецелесообразно, ввиду обширного фиброзирования и может использоваться лишь для вхождения в полость матки, методом выбора иссечения грубых протяженных пластов ВМС остается только биполярная гистерорезектоскопия. У пациенток после получения 24 баллов – изначально в лечебно-диагностическом треке обсуждалась многоэтапность лечения. Однако, в 35 % наблюдениях, при наличии высокобалльной ситуации, потребовалась повторная интервенция для продолжения

коррекции или контроля восстановления полости матки. Повторная интервенция также оценивалась согласно балльной системе, и переход в более низкобалльную инициировал применение уже лазерной (в сочетании с механической или без неё) методики.

Помимо ранжирования пациенток относительно выбора хирургического метода коррекции, мы предлагаем оценивать получение более 9 балльной оценки как хирургию высокого хирургического риска, инициирующую привлечение хирурга-эксперта с обязательным параллельным интраоперационным ультразвуковым контролем и навигацией.

Хотим отметить, что четко отработанный стандартный алгоритм восстановления полости матки на основании отработанных критериев, формирования виртуальной скульптуры полости матки , а также применяемые методы профилактики рецидива фиброзирования полости матки и стимуляция активации роста эндометрия (обязательно предоперационное использование бовгиалуронидазы азоксимера, интраоперационное введение противоспаечного барьера в виде гиалуроновой кислоты в сочетании с карбоксиметилцеллюлозой натрия (3 грамма), послеоперационное назначение эстрадиола гемигидрата 2 грамма и дидрогестерона 10 мг (на протяжении 3 месяцев)) позволили нам избежать интра и послеоперационных осложнений. Получение результата гистологического исследования биоптата полости матки могло изменить тактику ведения (при выявлении сопутствующей гиперплазии эндометрия применялись специфические препараты для ее лечения). Что немало интересно, ни у одной пациентки в «высокобалльной» группе не было получено данных за гиперпролиферацию эндометрия, результаты биопсии в большинстве свидетельствовали об индифферентном эндометрии. В остальных группах наблюдений, при гистологическом исследовании у двух пациенток была диагностирована аденокарцинома эндометрия, у 8 – железистая гиперплазия эндометрия без атипии. Также, в нашем исследовании всем больным было проведено иммуногистохимическое исследование для определения рецептивности эндометрия и диагностирования признаков хронического эндометрита. При получении данных относительно хронического эндометрита, происходила дальнейшая корректировка назначений (взятие посева из полости матки и назначение сопутствующей антибактериальной или противовирусной терапии).

Хотим отметить, что в «низкобалльной» группе не было диагностировано рецидивов синехий в течении 3 месяцев наблюдений. В 100% восстановилась менструальная функция. При проведении трёхмерной эхографии не было диагностировано ни единого паттерна ВМС. В группе умеренного риска – восстановление менструальной функции произошло у 88% обследованных. У 12% характер менструального цикла стал более обильный чем до коррекции. В 3% наблюдений были диагностированы паттерны тонких ВМС без деформации полости и снижения объёма эндометрия, которые были вылечены с использованием лазера амбулаторно. В высокобалльной группе у 35% наблюдаемых после 1 оперативного лечения, и уже у 82% после

второго этапа хирургии - сформировалась устойчивая удовлетворяющая пациентку менструалоподобная реакция, по данным динамического УЗИ – определялись плотные пристеночные синехии, незначительно деформирующие полость матки с выпадением зон нормального эндометрия, что инициировало дальнейшее комбинированное пролонгированное лечение. У 18% данной группы при получении нормального среза полости матки, диффузных изменений СЭЗ, тотальной гипоплазии аваскулярного эндометрия – данные позволили остановиться на данном этапе лечения, поскольку пациентки не были заинтересованы именно в реализации репродуктивной функции. Однако, сформированная полость матки позволяла нам отслеживать ее состояние и контролировать состояние эндометрия с профилактической целью относительно развития аденокарциномы.

Данный мультидисциплинарный алгоритм, сочетающий в себе уникальные возможности базовой и расширенной контрастной трёхмерной эхографии в сочетании с чёткими разработанными трёхмерными паттернами и новейшими эндоскопическими дескрипторами позволили нам на основании предложенной удобной балльной классификации ранжировать пациенток согласно риску хирургического вмешательства, выбрать наиболее подходящий и безопасный метод их коррекции, снизить до минимального вероятность перфорации матки. На предоперационном этапе мы смогли спрогнозировать этапность вмешательств и скорректировать медикаментозное лечение, направленное на профилактику спаечного процесса и стимулирующее репарацию эндометрия. Полученные нами достоверные данные относительно восстановления анатомии полости матки и нормализации менструальной функции, позволили дать адекватный перспективный прогноз относительно реализации репродуктивной функции и подготовить большинство наших обследованных (82%) к желанной и долгожданной беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. F.D. Guardo, L.D. Corte, G.A.Vilos et al. Evaluation and treatment of infertile women with Asherman syndrome: an updated review focusing on the role of hysteroscopy. Reprod Biomed Online. 2020 Jul;41(1):55-61. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.03.021

2. R. Briki, O. Cherif, S. Chachia, et al. Evaluation of Uterine Cavity in Infertile Women: Comparison of Transvaginal Ultrasound, Saline Contrast Hystero-Sonography and Hysteroscopy—A Tunisian Series. Open Access Library Journal. 2018;5(8):1-9. doi: 10.4236/oalib.1104826

3. X. Zhao, Y. Yang, D. Liao, et al. Correlative study of preoperative three-dimensional transvaginal ultrasound findings and ongoing pregnancy/live birth in patients with intrauterine adhesions following hysteroscopic adhesiolysis: a retrospective study. Quant Imaging Med Surg . 2022 Apr;12(4):2441-2453. doi: 10.21037/qims-21-727

4. J. Li, D. Liu, X. Qing, L. Yu, H. Xiang. Deep learning-based three-dimensional transvaginal ultrasound in diagnosis of intrauterine adhesion. Scientific Programming, 2021, Article ID 2947021, 8 p. https://doi.org/10.1155/2021/2947021

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ ГЕМОСТАЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ

А. Б. Казумова[1], Н. В. Самбурова[1]

[1]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Казумова Аглая Борисовна – студент 3 курса, Институт стоматологии им. Е.В.Боровского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ORCID: 0009-0003-6481-6017

Самбурова Наталья Викторовна – к.м.н., доцент, доцент кафедры патофизиологии Института клинической медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ORCID: 0000-0002-4564-8439, SPIN: 9084-7676

Автор, ответственный за переписку:

Казумова Аглая Борисовна – студент 3 курса, Институт стоматологии им. Е.В.Боровского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: aglaya.kazumowa@yandex.ru, +7 985 299 54 52

Аннотация. В последнее десятилетие все больше исследований сообщают о наличии у пациенток, страдающих такими осложнениями беременности и родов, как повторные потери плода, мертворождение, задержка внутриутробного развития и преэклампсия, врожденной тромботической тромбоцитопенической пурпуры. Такая патология требует особенного подхода в диагностике и терапии. Синдром Апшоу-Шульмана (USS) – редко регистрируемая врожденная форма тромботической тромбоцитопенической пурпуры (TTP), возникающая в результате мутаций в гене металлопротеиназы ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with a ThromboSpondin type 1 motif, member 13), расщепляющей фактор фон Виллебранда (vWF). Недостаточность ADAMTS13 потенциирует микротромбоз сосудов, вызванного задержкой ультравысокомолекулярных мультимеров vWF в кровеносном русле. Согласно последним исследованиям с участием беременных женщин, неоднородность проявлений затруднила диагностику этой патологии. Заболевание возникает неожиданно и связано с повышенным риском смерти матери и плода. Цель исследования – провести анализ актуальности диагностики генетического дефекта ADAMTS13 при синдроме Апшоу-Шульмана, определить практичность и продуктивность технологий, применяемых для терапии возникающих акушерских осложнений.

Был проведен обзор современной российской и зарубежной, преимущественно англоязычной, литературы, посвященной диагностике и лечению врожденной тромбоцитопенической пурпуры, а также профилактике сопутствующих осложнений беременности и родов. Учитывались новейшие издания, опубликованные в специализированных медицинских журналах и руководствах. В этом обзоре будут выделены основные патогенетические механизмы развития и прогрессирования синдрома, текущие тенденции ведения пациенток, страдающих репродуктивной недостаточностью в ассоциации с синдромом Апшоу-Шульмана, и охарактеризованы современные группы фармакологических препаратов выбора, методики терапии. Фактическое лечение первой линии ограниченно и по-прежнему безуспешно в 30% случаев. Правильная стратегия терапии пациенток с повышенном риском невынашивания беременности и нацеленность на профилактику неблагоприятных исходов способствуют снижению частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, обусловленных генетическим дефектом. Беременность с синдромом Апшоу-Шульмана станет одной из основных областей акушерских разработок в ближайшие годы, необходимы дальнейшие ассоциативные и высококачественные исследования для формирования лучших терапевтических инноваций и возможностей в будущем.
Ключевые слова: тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; синдром Апшоу-Шульмана; фактор фон Виллебранда; ADAMTS13; сосудистый микротромбоз; беременность; плацента.

Введение. Тромбоцитопеническая пурпура (TTP) – редкая и смертельная патология, характеризующаяся агрессивным течением, тромбоцитопенией и гемолитической анемией с клиническими последствиями тромбоза [3]. TTP вызвана дефицитом металлопротеиназы ADAMTS13 (*A D*isintegrin *A*nd *M*etalloproteinase with a *T*hrombo*S*pondin type 1 motif, member *13*), расщепляющей фактор фон Виллебранда (vWF). ADAMTS13 – критически важный фермент, который синтезируется в звездчатых клетках печени (перисинусоидальных липоцитах Ито) [1].
Синдром Апшоу-Шульмана (USS) – редко регистрируемая врожденная форма тромботической тромбоцитопенической пурпуры (TTP), возникающая в результате мутаций в гене ADAMTS13 [7]. Недостаточность ADAMTS13 потенциирует микротромбоз сосудов, вызванного задержкой ультравысокомолекулярных мультимеров vWF в кровеносном русле [19]. Согласно последним исследованиям с участием беременных женщин, неоднородность проявлений затруднила диагностику этой патологии. Заболевание возникает неожиданно и связано с повышенным риском смерти матери и плода [4]. Подчеркивается необходимость ежемесячного мониторинга ADAMTS13 на предмет рецидивов, при этом профилактика имеет первостепенное значение для предотвращения материнской и внутриутробной смертности [1, 3, 10].

Цель и задачи. Цель исследования – провести анализ актуальности диагностики генетического дефекта ADAMTS13 при синдром Апшоу-Шульмана, определить практичность и продуктивность технологий, применяемых для терапии возникающих акушерских осложнений.

Материалы и методы. Был проведен компьютерный поиск литературы с использованием баз данных PubMed, EMBASE, Medline, Scopus, ScienceDirect, Google Scholar и Web of Science, внимание сосредоточено на последних разработках в области диагностики и терапии. Использованы ключевые слова тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; синдром Апшоу-Шульмана; фактор фон Виллебранда; ADAMTS13; сосудистый микротромбоз; беременность; плацента. Исследования, которые соответствовали критериям и являлись проспективными, многоцентровыми и рандомизированными, были систематически изучены.

Результаты и обсуждение. По эпидемиологическим данным половина страдающих ТТР женщин беременны или находятся в послеродовом периоде. Распространенность, согласно последнему межотраслевому исследованию с использованием мета-анализа, составила 13 случаев на 1 миллион человек в Европе и 19 случаев на 1 миллион человек в Соединенных Штатах Америки [14, 26].

Патогенетический механизм ТТР представлен либо дефицитом протеазы, обусловленным мутацией гена ADAMTS13 (синдром Апшоу-Шульмана), либо выработкой специфических ингибирующих аутоантител, то есть иммунной аутоагрессией. Приобретенная ТТР с аутоантителами и тяжелым дефицитом ADAMTS13 (<10%) является достаточно частой формой этого заболевания: было показано, что белки, обнаруженные в плацентарном кровообращении, могут служить материнскими триггерами для выработки аутоантител к ADAMTS13 и быть связаными с осложнениями беременности; но генетическая форма заболевания не менее распространена [12, 19, 27].

ADAMTS13 относится к цинковым металлопротеазам и в основном экспрессируется в звездчатых клетках печени и эндотелиальных клетках, но также обнаруживается и в других типах клеток, таких как тромбоциты, подоциты почек и нейроны головного мозга. Протеаза имеет несколько белковых доменов [12, 18, 24]:

- Сигнальный пептид, который взаимодействует с мембранными фосфолипидами и белковыми компонентами внутри клеток и играет роль в секреции, сворачивании и стабильности белка ADAMTS13;
- Активный сайт VWF-A2, который расщепляет vWF в домене A2;
- Спейсерный домен, который распознает vWF, увеличивая сродство ADAMTS13 к vWF;
- Дезинтегриноподобный домен, который участвует в низкоаффинном связывании;

- Повторы TSP1 дезинтегрина, которые опосредуют взаимодействия между белками внеклеточного матрикса;
- Домен, богатый цистеином, который отвечает за прикрепление, например, к интегринам различных клеточных мембран;
- Домены CUB, которые принимают участие в белок-белковых взаимодействиях с активными доменами и участвуют в секреции белка ADAMTS13.

Вызывающие заболевание мутации, которые можно обнаружить во всех доменах протеазы ADAMTS13, приводят преимущественно к нарушению секреции ADAMTS13 со сниженной активностью протеазы [17]. На сегодняшний день известно более 120 мутаций, вызывающих заболевание, и многочисленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Остаточная активность ADAMTS13 наблюдалась при определенных мутациях и, по-видимому, связана с более поздним началом заболевания. При этом было постулировано, что некоторые SNP взаимодействуют друг с другом и могут усиливать или снижать общую активность ADAMTS13 [17, 18]. Единственная известная роль ADAMTS13 заключается в расщеплении мультимеров vWF [12].

Физиологическая роль мультимерного vWF заключается в обеспечении адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу в условиях повреждения сосуда и гемодинамического стресса [2, 5, 23]. Низкомолекулярные фрагменты vWF, циркулирующие в системном кровотоке, обладают слабой способностью к связыванию с тромбоцитами и не проявляют гемостатическую активность. В то время как аффинность отдельных субъединиц vWF к тромбоцитам чрезвычайно мала, мультимеры vWF обеспечивают одновременно множество участков связывания с рецепторами Ib тромбоцитов, что позволяет значительно увеличить силу взаимодействия vWF-тромбоцит [19]. Мультимерные «ленты» vWF могут фиксироваться на поверхности мембран эндотелиальных клеток при помощи P-селектина, который секретируется из телец Weibel-Palade одновременно с vWF. Таким образом, в условиях абсолютного дефицита ADAMTS13 vWF находится в «необработанной» (сверхкрупной мультимерной) форме и микрососуды оказываются перекрыты гигантскими ультравысокомолекулярными vWF, на которых оседает все возрастающее количество тромбоцитов, образуя блокирующие микрососудистое русло тромбоцитарные тромбы [2, 5, 23]. Микроангиопатия приводит к фрагментации эритроцитов и образованию шизоцитов [27].

То есть, первыми клиническими признаками USS являются острая микроангиопатия, характеризующаяся микроангиопатической гемолитической анемией, тяжелой тромбоцитопенией и сосудистыми микротромбами [19, 27]. Как следствие, появляющиеся ишемические повреждения могут повреждать любой орган, в том числе и плаценту [11, 22].

Гистопатологический анализ плаценты может предоставить ценные данные о том, как происходит тромбоз сосудов и характерная микроангиопатия при ТТР [13, 30]. Гистопатология плаценты при стандартном окрашивании гематоксилином и эозином обнаруживает: наличие обтурационных затруднений кровотока, наиболее часто – внутривенного тромбоза, развивающегося в результате этих изменений ишемического некроза ворсинок, а также дистрофических диспротенинозов с отложениями фибриноида и участками межворсиновых кровоизлияний [6, 22, 30].

Результаты гистохимических и иммуногистохимических методов с использованием трихромного окрашивания Массона и антител против CTK AE1/AE3, β-ХГЧ и CD31 предоставили данные об агрессивности этого заболевания: множественные инфаркты плаценты, которые угрожают не только здоровью плода, но и матери, с возможностью развития осложнений, таких как преэклампсия и гемолиз, повышение уровня печеночных ферментов, тромбоцитопения (HELLP). Гибель плода может произойти из-за индуцированной гипоксии [6, 22, 30].

В доступной публикации описано, что патогистологический анализ образцов плацент женщин с ТТР выявил тромбоз, инфаркты и ремоделирование сосудистых стенок в ворсинках хориона и децидуальной оболочке, что указывает на нарушение кровоснабжения плода и матери, наблюдался синдром тромботического и микрососудистого повреждения [6, 22, 30].

В ходе исследования, проведенного в Италии, оценивали гистологические изменения в плацентах женщин с ТТР, свидетельствующие о сосудистой мальперфузии плода (FVM) или материнской сосудистой мальперфузии (MVM). Гистологический анализ выявил наличие в ворсинках хориона подострого тромбоза с ремоделированием сосудистой стенки и обширных инфарктов паренхимы с интервиллозитом. При этом плаценты контрольных женщин не имели гистологических изменений [6, 22, 30].

Кроме того, оценивалось воспалительное состояние плаценты по количеству фетальных макрофагов, известных как Клетки Хофбауэра, в паренхиме ворсинок хориона. Воспалительные изменения выявлены не были [6, 27, 30].

Распространенными факторами риска развития USS являются сепсис, неоплазия, прием антикоагулянтных препаратов, трансплантация органов и беременность [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

Физиологические и иммунологические изменения во время беременности связаны с уникальными проявлениями ТТР в этот период, которые еще предстоит полностью изучить с помощью междисциплинарных и многопрофильных исследований с участием акушеров, гематологов, анестезиологов, врачей-лаборантов и неонатологов [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

При акушерской форме ТТР острые осложнения чаще встречается у прежде не рожавщих женщин, так как у них уровень эстрадиола намного выше, чем у часто родящих [21]. Беременность сама по себе, а также послеродовой период с физиологической точки зрения

характеризуются как состояния прокоагуляции, которая также является фактором риска острой ТТР. Во время беременности изменения в системе гемостаза предрасполагают пациентку к гиперкоагуляции, которая постепенно нормализуется примерно через шесть недель после родов. Концентрация vWF значительно увеличивается в третьем триместре беременности, в то время как ADAMTS13 значительно снижается со второго триместра, и возвращается к оптимальным значениям только к третьей неделю после родов. Кроме того, эстрогенный контроль протеазы также играет особую роль [1, 3, 7, 10, 11, 13, 22].

Осложнения со стороны матери и плода (задержка роста плода, преждевременные роды, гибель плода, инсульт у матери) как правило, распространены и могут быть тяжелыми для пациентки, а частота рецидивов максимальна и достигает 100% [4, 25, 29].

Большинство больниц технологически не оснащены для постановки правильного и полного диагноза: отсутствует диагностический набор ADAMTS13 [15]. Своевременный диагноз может спасти жизнь пациентки. Кроме того, тесты на тропонин и D-димер должны быть интегрированы в диагностический комплекс для правильной оценки ишемии при ТТР, наряду с определением активности ЛДГ и количественным подсчетом шизоцитов в мазке периферической крови. Была бы полезна разработка простого руководства с быстрым алгоритмом дифференциальной диагностики. Однако в настоящее время принятие терапевтического решения может быть отложено из-за легкости совершения ошибок при определении патологи ADAMTS13, что приводит к задержкам с серьезными последствиями для беременной [1, 3, 7, 10, 11, 13, 15, 22].

Лечение первой линии основано на клинических данных и состоит из плазмафереза и введения свежей или замороженной плазмы. Терапия низкомолекулярным гепарином (LMWH) для предотвращения тромбоза необходима во всех случаях. Если существует риск кровотечения, следует использовать переливание тромбоцитарной массы [7, 16, 20].

Иммуносупрессия выступает в качестве основного метода лечения и достигается введением глюкокортикостероидных препаратов или конкурентным ингибированием аутоантител к ADAMTS13 с помощью ритуксимаба в качестве первого (начального) этапа терапии [8, 9, 16].

Каплацизумаб – это гуманизированное моноклональное антитело, получаемое из плазмы крови лам. Каплацизумаб предотвращает взаимодействие vWF с тромбоцитами – препарат, специально одобренный для лечения ТТР на заре развития методик фармакологической коррекции. Имеется достаточно доказательств, позволяющих предположить, что каплацизумаб значительно ускоряет нормализацию количества тромбоцитов и снижает риск обострения [8, 16].

N-ацетилцистеин является антимуколитиком, который разрушает дисульфидные связи в vWF, что может уменьшить размер мультимеров vWF и их протромботический потенциал. N-ацетилцистеин ингибирует vWF-зависимую агрегацию тромбоцитов, но на данный момент фармацевтические испытания проходил только на животных [8, 16].

Что касается хирургического лечения, была рассмотрена возможность спленэктомии, и это возможный вариант для пациентов с хроническим рецидивом. Хотя ранее спленэктомия показала повышенный риск побочных явлений, усовершенствованная методика хирургических вмешательств значительно снизила количество осложнений, особенно при использовании лапароскопической техники [8, 16, 28].

Лечение должно быть скорректировано в соответствии с уровнями ADAMTS13, реакцией пациентки на лечение и тщательным акушерским обследованием, что потребует интеграции телемедицинских способов диагностики с использованием многопрофильного подхода. Врач-неонатолог для дальнейшей оценки состояния новорожденного является необходимым звеном в течение третьего триместра беременности [8, 16].

Наблюдение последующих беременностей и ежемесячный мониторинг ADAMTS13 на наличие признаков рецидива имеет ключевое значение [1, 3, 8, 10, 16, 22].

В настоящее время мы сталкиваемся с низкой или умеренной определенностью в отношении последовательности действий; недостаточно данных для определения наиболее эффективного терапевтического подхода. Требуются междисциплинарные рекомендации, а также инновационные методы лечения, хотя существуют ограничения в получении высококачественных данных о последних [1, 3, 8, 10, 16, 22].

Заключение. Акушеры и гинекологи должны знать о редком и смертельном заболевании – тромботической тромбоцитопенической пурпуре при синдроме Апшоу-Шульмана. Постановка правильного диагноза путем определения ADAMTS13 и проведения дополнительных анализов является решающим событием для достижения положительного результата. Настоятельно рекомендуется применять междисциплинарные подходы, чтобы снизить риск ошибочного диагноза.

Предпочтение отдается профилактике. Мониторинг уровня ADAMTS13 в сыворотке крови проводится при планировании последующей беременности.

Следует учитывать долгосрочные осложнения TTP: ишемические инсульты, вторичные гипертонии, ишемическую болезнь сердца, когнитивные отклонения и снижение качества жизни. Беременность с синдромом Апшоу-Шульмана станет одной из основных областей акушерских разработок в ближайшие годы, необходимы дальнейшие ассоциативные и высококачественные исследования для формирования лучших терапевтических инноваций и возможностей в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Galstyan G.M., Shmakov R.G., Klebanova E.E., Troitskaya V.V., Dvirnyk V.N., Surin V.L., Pshenichnikova O.S., Pozdnyakova Yu.M., Polushkina E.S., Gaponova T.V., Mamleeva S.Yu., Pyregov A.V., Rogachevskiy O.V., Sysoeva E.P., Tsvetaeva N.V. Thrombotic thrombocytopenic purpura in pregnancy. Giving birth or not giving birth, that is the question. Russian journal of hematology and transfusiology. 2022;67(1):42-61. Russian (Галстян Г.М., Шмаков Р.Г., Клебанова Е.Е., Троицкая В.В., Двирнык В.Н., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С., Познякова Ю.М., Полушкина Е.С., Гапонова Т.В., Мамлеева С.Ю., Пырегов А.В., Рогачевский О.В., Сысоева Е.П., Цветаева Н.В. Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура у беременных: родоразрешать нельзя прерывать. Где поставить запятую? Гематология и трансфузиология. 2022;67(1):42-61). doi: 10.35754/0234-5730-2022-67-1-42-61.
2. Grigoreva K.N., Bitsadze V.O., Khizroeva J.Kh., Tsibizova V.I., Tretyakova M.V., Blinov D.V., Pankratyeva L.L., Gashimova N.R., Yakubova F.E., Antonova A.S., Gris J., Elalamy I., Makatsariya A.D. Prognostic value of von Willebrand factor in clinical practice. Obstetrics, Gynecology and Reproduction. 2022;16(5):588–599. Russian (Григорьева К.Н., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Цибизова В.И., Третьякова М.В., Блинов Д.В., Панкратьева Л.Л., Гашимова Н.Р., Якубова Ф.Э., Антонова А.С., Гри Ж., Элалами И., Макацария А.Д. Прогностическое значение фактора фон Виллебранда в клинической практике. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2022;16(5):588–599). doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.363
3. Delmas Y, Helou S, Chabanier P, Ryman A, Pelluard F, Carles D, Boisseau P, Veyradier A, Horovitz J, Coppo P, Combe C. Incidence of obstetrical thrombotic thrombocytopenic purpura in a retrospective study within thrombocytopenic pregnant women. A difficult diagnosis and a treatable disease. BMC Pregnancy Childbirth. 2015 Jun 17;15:137. doi: 10.1186/s12884-015-0557-5. PMID: 26081109; PMCID: PMC4469004.
4. Ferrari B, Maino A, Lotta LA, Artoni A, Pontiggia S, Trisolini SM, Malato A, Rosendaal FR, Peyvandi F. Pregnancy complications in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: a case-control study. Orphanet J Rare Dis. 2014 Nov 28;9:193. doi: 10.1186/s13023-014-0193-6. PMID: 25431165; PMCID: PMC4279798.
5. Furlan M. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2003 Jul;1(2):243-55. doi: 10.1586/14779072.1.2.243. PMID: 15030284.
6. Gupta M, Feinberg BB, Burwick RM. Thrombotic microangiopathies of pregnancy: Differential diagnosis. Pregnancy Hypertens. 2018 Apr;12:29-34. doi: 10.1016/j.preghy.2018.02.007. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29674195.

7. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017 May 25;129(21):2836-2846. doi: 10.1182/blood-2016-10-709857. Epub 2017 Apr 17. PMID: 28416507.
8. Joly BS, Vanhoorelbeke K, Veyradier A. Understanding therapeutic targets in thrombotic thrombocytopenic purpura. Intensive Care Med. 2017 Sep;43(9):1398-1400. doi: 10.1007/s00134-016-4662-3. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28116452.
9. Kaneda Y, Kitagawa J, Yamaguchi K, Matsumoto T, Nakamura N, Nakamura H, Ninomiya S, Kanemura N, Kasahara S, Hara T, Shimizu M, Tsurumi H. Thrombotic thrombocytopenic purpura during pregnancy refractory to plasma exchange and rituximab. Rinsho Ketsueki. 2019;60(3):209-212. Japanese. doi: 10.11406/rinketsu.60.209. PMID: 31068517.
10. Kentouche K, Voigt A, Schleussner E, Schneppenheim R, Budde U, Beck JF, Stefańska-Windyga E, Windyga J. Pregnancy in Upshaw-Schulman syndrome. Hamostaseologie. 2013 May 29;33(2):144-8. doi: 10.5482/HAMO-13-04-0025. PMID: 23715104.
11. Kremer Hovinga JA, George JN. Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. N Engl J Med. 2019 Oct 24;381(17):1653-1662. doi: 10.1056/NEJMra1813013. PMID: 31644845.
12. Lotta LA, Wu HM, Mackie IJ, Noris M, Veyradier A, Scully MA, Remuzzi G, Coppo P, Liesner R, Donadelli R, Loirat C, Gibbs RA, Horne A, Yang S, Garagiola I, Musallam KM, Peyvandi F. Residual plasmatic activity of ADAMTS13 is correlated with phenotype severity in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2012 Jul 12;120(2):440-8. doi: 10.1182/blood-2012-01-403113. Epub 2012 Apr 23. PMID: 22529288; PMCID: PMC3721603.
13. Mansouri Taleghani M, von Krogh AS, Fujimura Y, George JN, Hrachovinová I, Knöbl PN, Quist-Paulsen P, Schneppenheim R, Lämmle B, Kremer Hovinga JA. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura and the hereditary TTP registry. Hamostaseologie. 2013 May 29;33(2):138-43. doi: 10.5482/HAMO-13-04-0026. PMID: 23715103.
14. Mariotte E, Azoulay E, Galicier L, Rondeau E, Zouiti F, Boisseau P, Poullin P, de Maistre E, Provôt F, Delmas Y, Perez P, Benhamou Y, Stepanian A, Coppo P, Veyradier A; French Reference Center for Thrombotic Microangiopathies. Epidemiology and pathophysiology of adulthood-onset thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency (thrombotic thrombocytopenic purpura): a cross-sectional analysis of the French national registry for thrombotic microangiopathy. Lancet Haematol. 2016 May;3(5):e237-45. doi: 10.1016/S2352-3026(16)30018-7. Epub 2016 Apr 16. PMID: 27132698.
15. Mitranovici MI, Puşcaşiu L, Oală IE, Petre I, Craina ML, Mager AR, Vasile K, Chiorean DM, Sabău AH, Turdean SG, Cotoi OS. A Race against the Clock: A Case Report and Literature Review Concerning the Importance of ADAMTS13 Testing in Diagnosis and Management of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura during Pregnancy. Diagnostics (Basel). 2022 Jun 27;12(7):1559. doi: 10.3390/diagnostics12071559. PMID: 35885465; PMCID: PMC9323862.

16. Nonaka T, Yamaguchi M, Nishijima K, Moriyama M, Takakuwa K, Enomoto T. A successfully treated case of an acute presentation of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) with decreased ADAMTS13 during late stage of pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. 2021 May;47(5):1892-1897. doi: 10.1111/jog.14737. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33751717.
17. Plaimauer B, Fuhrmann J, Mohr G, Wernhart W, Bruno K, Ferrari S, Konetschny C, Antoine G, Rieger M, Scheiflinger F. Modulation of ADAMTS13 secretion and specific activity by a combination of common amino acid polymorphisms and a missense mutation. Blood. 2006 Jan 1;107(1):118-25. doi: 10.1182/blood-2005-06-2482. Epub 2005 Sep 13. PMID: 16160007.
18. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J, Greinacher A, Deckmyn H, De Meyer SF, Coppo P, Veyradier A, Vanhoorelbeke K. An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost. 2018 Feb;16(2):378-388. doi: 10.1111/jth.13922. Epub 2018 Jan 23. PMID: 29222940.
19. Sadler JE. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017 Sep 7;130(10):1181-1188. doi: 10.1182/blood-2017-04-636431. Epub 2017 Aug 2. PMID: 28768626; PMCID: PMC5606001.
20. Sakai K, Fujimura Y, Nagata Y, Higasa S, Moriyama M, Isonishi A, Konno M, Kajiwara M, Ogawa Y, Kaburagi S, Hara T, Kokame K, Miyata T, Hatakeyama K, Matsumoto M. Success and limitations of plasma treatment in pregnant women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost. 2020 Nov;18(11):2929-2941. doi: 10.1111/jth.15064. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33433066.
21. Sánchez-Luceros A, Farías CE, Amaral MM, Kempfer AC, Votta R, Marchese C, Salviú MJ, Woods AI, Meschengieser SS, Lazzari MA. von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in normal non-pregnant women, pregnant and post-delivery women. Thromb Haemost. 2004 Dec;92(6):1320-6. doi: 10.1160/TH03-11-0683. PMID: 15583740.
22. Scully M, Thomas M, Underwood M, Watson H, Langley K, Camilleri RS, Clark A, Creagh D, Rayment R, Mcdonald V, Roy A, Evans G, McGuckin S, Ni Ainle F, Maclean R, Lester W, Nash M, Scott R, O Brien P; collaborators of the UK TTP Registry. Thrombotic thrombocytopenic purpura and pregnancy: presentation, management, and subsequent pregnancy outcomes. Blood. 2014 Jul 10;124(2):211-9. doi: 10.1182/blood-2014-02-553131. Epub 2014 May 23. PMID: 24859360.
23. South K, Lane DA. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo. J Thromb Haemost. 2018 Jan;16(1):6-18. doi: 10.1111/jth.13898. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29108103; PMCID: PMC5814862.
24. South K, Luken BM, Crawley JT, Phillips R, Thomas M, Collins RF, Deforche L, Vanhoorelbeke K, Lane DA. Conformational activation of ADAMTS13. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Dec 30;111(52):18578-83. doi: 10.1073/pnas.1411979112. Epub 2014 Dec 15. PMID: 25512499; PMCID: PMC4284544.
25. Tanaka H, Tenkumo C, Mori N, Kokame K, Fujimura Y, Hata T. Case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during

pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. 2014 Jan;40(1):247-9. doi: 10.1111/jog.12125. Epub 2013 Aug 12. PMID: 23937165.

26. Török TJ, Holman RC, Chorba TL. Increasing mortality from thrombotic thrombocytopenic purpura in the United States--analysis of national mortality data, 1968-1991. Am J Hematol. 1995 Oct;50(2):84-90. doi: 10.1002/ajh.2830500203. PMID: 7573005.
27. Tsai HM. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Int J Hematol. 2010 Jan;91(1):1-19. doi: 10.1007/s12185-009-0476-1. PMID: 20058209; PMCID: PMC3159000.
28. Umemura A, Sasaki A, Nitta H, Obuchi T, Baba S, Wakabayashi G. Laparoscopic splenectomy for the treatment of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. Clin J Gastroenterol. 2013 Dec;6(6):420-3. doi: 10.1007/s12328-013-0419-5. Epub 2013 Sep 7. PMID: 26182130.
29. von Krogh AS, Kremer Hovinga JA, Tjønnfjord GE, Ringen IM, Lämmle B, Waage A, Quist-Paulsen P. The impact of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura on pregnancy complications. Thromb Haemost. 2014 Jun;111(6):1180-3. doi: 10.1160/TH13-08-0713. Epub 2014 Feb 6. PMID: 24499950.
30. Yamamoto T, Fujimura Y, Emoto Y, Kuriu Y, Iino M, Matoba R. Autopsy case of sudden maternal death from thrombotic thrombocytopenic purpura. J Obstet Gynaecol Res. 2013 Jan;39(1):351-4. doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.01941.x. Epub 2012 Jul 6. PMID: 22765161.

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА ПАЦИЕНТОК С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И ВЛИЯНИЕ НА НЕЕ ТЕРАПИИ МЕТФОРМИНОМ

Е.Д. Кириллова, Г.Е. Чернуха, Т.В. Припутневич

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

Актуальность

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) – наиболее распространенная форма гормонозависимых нарушений репродуктивной системы, ее частота варьирует от 10 до 13% [1]. Согласно Роттердамским критериям, СПКЯ диагностируется при наличии хотя бы двух из трех классических признаков: гиперандрогении, олиго-/ановуляции и поликистозных яичников по УЗИ. СПКЯ ассоциирован не только с нарушениями менструального цикла, гирсутизмом и бесплодием, но и с метаболическими нарушениями, в основе которых лежит инсулинорезистентность (ИР), а также хроническим субклиническим воспалением [2]. В последнее время в центре внимания исследователей находится вопрос о роли нарушений кишечной микробиоты (КМ) в генезе ИР и в развитии СПКЯ. Первые исследования в этой области свидетельствовали о связи КМ с ожирением, сахарным диабетом (СД) 2 типа и метаболическим синдромом [3-5]. Обнаружено снижение количества *Firmicutes* и *Clostridium* у больных метаболическим синдромом по сравнению со здоровыми людьми, а также увеличение количества жировой ткани у стерильных мышей после пересадки КМ от мышей с ожирением [6].

В 2012 году K. Tremellen и K. Pearce предложили теорию, согласно которой дисбиоз КМ, возникший вследствие погрешностей в диете, может приводить к дисфункции кишечного барьера и эндотоксемии с последующим развитием хронического субклинического воспаления, ИР и гиперандрогении, характерной для СПКЯ [7]. В дальнейшем подтверждение этой теории получено как на мышиных моделях, так и у людей [8–11]. Однако результаты исследований немногочисленны и противоречивы.

Терапевтические подходы при СПКЯ включают устранение проявлений гиперандрогении, индукцию овуляции, регуляцию менструального цикла, предупреждение и лечение кардиометаболических осложнений, но ни один из препаратов не обеспечивает эффективную коррекцию всех нарушений. Взаимосвязь ИР и гиперандрогении с кишечной микробиотой послужила основой для разработки новых подходов к терапии, а также изучению

влияния на КМ инсулиносенситайзера метформина и разработке предикторов его эффекта на менструальный цикл.

Все это определяет целесообразность поиска новых звеньев патогенеза и совершенствования подходов к терапии СПКЯ.

Цель исследования

Изучить особенности кишечной микробиоты у пациенток с СПКЯ и определить влияние метформина на ее состав, эндокринно-метаболические параметры и характер менструального цикла.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование на базе ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Минздрава России, включено 170 пациенток с СПКЯ (основная группа) и 30 здоровых женщин (группа сравнения), сопоставимых по возрасту и индексу массы тела (ИМТ).

Всем пациенткам было проведено клинико-лабораторное обследование, оценка гормонального профиля на 2-3 д.м.ц. с определением уровней ЛГ, ФСГ, Тобщ и Тсв, А4, ПССГ, пролактина, 17-ОП, ТТГ, интерлейкина-1β (IL-1), интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухолей (TNF-α) и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови, ультразвуковое исследование органов малого таза трансвагинальным датчиком частотой 8,0 Мгц с определением объема яичников, подсчетом числа антральных фолликулов в объеме яичников в 3D-режиме (аппарат Toshiba SSA-240, Япония), пероральный 2-х часовой глюкозотолерантный тест (ПГТТ) с 75 г глюкозы с оценкой уровня глюкозы и иммунореактивного инсулина натощак, через 1 и 2 часа после нагрузки, оценка липидного спектра крови.

Оценка состава кишечной микробиоты проводилась методом культуромики с использованием расширенного спектра питательных сред и метода MALDI-TOF масс-спектрометрии, а также методом ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов Энтерофлор® Дети.

Всем пациенткам проведена терапия метформином 1500 мг/сут в течение 6 месяцев.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью таблиц «Microsoft Excel» и программы «MedCalc» (MedCalc® statistical software, версия 22.013).

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациенток с СПКЯ составил 25,5±5,5 лет, средний ИМТ – 25,8±5,3 кг/м^2. В группе сравнения эти показатели составили 26,6±5,0 лет и 24,4±4,8 кг/м^2 соответственно, $p>0,05$.

Олигоменорея наблюдалась у 90/92 (97,8%) пациенток с СПКЯ, аменорея – у 2/92 (2,1%). Клинические признаки гиперандрогении отмечали 66/92 (71,7%) пациенток, повышение уровня андрогенов в сыворотке крови – 79/92 (85,9%). Поликистозная морфология яичников по данным УЗИ отмечена у 88/92 (95,7%) больных.

Оценка показателей углеводного обмена по данным ПГТТ выявила нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) у 15/92 (16,3%) пациенток, ИР и гиперинсулинемию – соответственно у 43/92 (46,7%) и у 37/92 (40,2%).

Анализ показателей провоспалительных маркеров в сыворотке крови выявил признаки хронического субклинического воспаления в виде повышения уровней IL-6, TNF-α и СРБ у пациенток с СПКЯ (1,2 (0,8;2,0), 0,7 (0,2;1,2), 4,8 (3,2;5,8) соответственно) в отличие от группы сравнения (0,5 (0,2;0,8), 0,2 (0,1;0,6), 3,7 (3,1;4,1) соответственно), $p<0,05$, а также в виде более высокой частоты повышения уровней СРБ и IL-6 (29/92 (31,5%) и 39/92 (42,4%) соответственно) при СПКЯ. В группе сравнения повышения уровня СРБ не было ни в одном случае, повышение уровня IL-6 наблюдалось лишь 3/30 (10%) случаев.

Анализ состава кишечной микробиоты всех женщин методом культуромики позволил идентифицировать микроорганизмы 51 семейства, 80 родов и 320 видов (рис. 1).

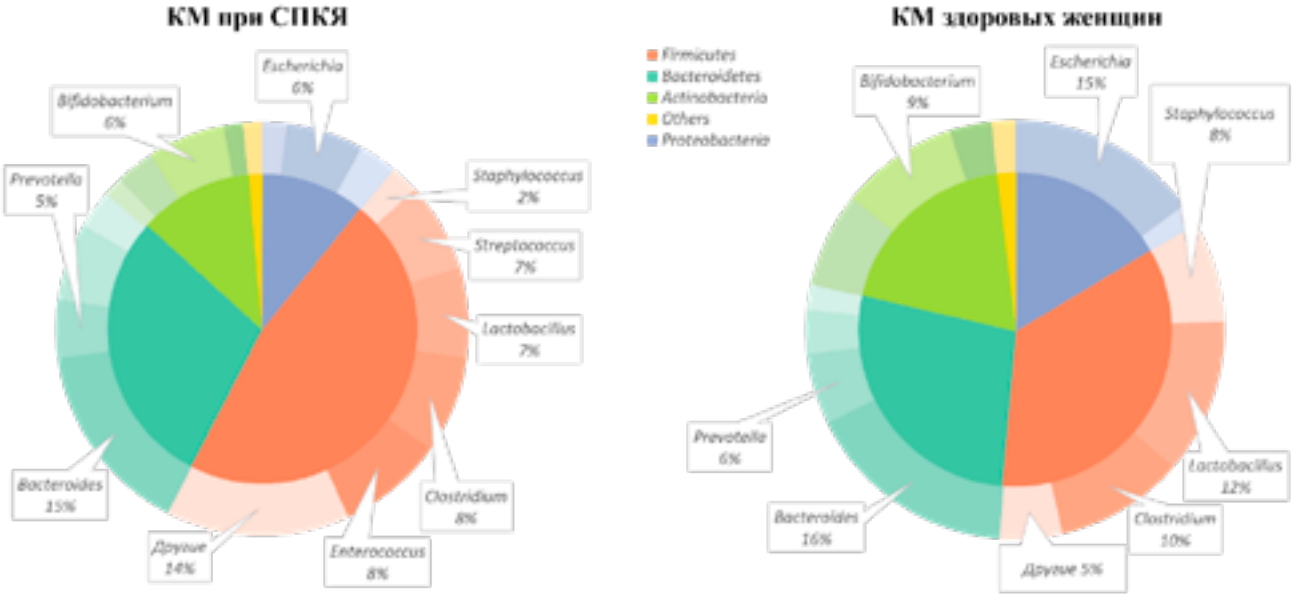


Рисунок 1. Состав КМ у пациенток с СПКЯ и здоровых женщин

Одним из наиболее значимых показателей стабильности и колонизационной резистентности КМ является ее биологическое разнообразие, включая видовое богатство, то есть количество разных видов микроорганизмов в определенном образце, которое было снижено у пациенток с СПКЯ по сравнению со здоровыми женщинами, на что указывает значение индекса Маргалефа (рис. 2).

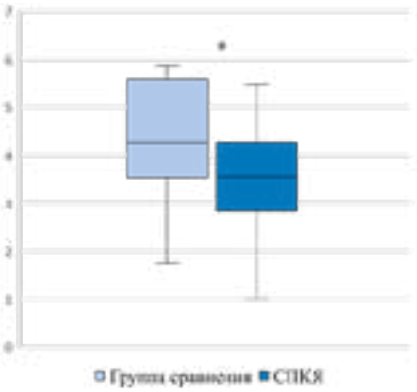


Рисунок 2. Индекс видового богатства Маргалефа в группах СПКЯ и сравнения

Количественный анализ бактериального состава кишечника пациенток с СПКЯ выявил нарушение баланса микробных сообществ в виде повышения титра условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) *Staphylococcus aureus* и *Erysipelatoclostridium ramosum* (*E. ramosum*) (рис. 3), ассоциированных по данным литературы с продукцией токсинов и повышенной абсорбцией липидов в кишечнике [12]. Наряду с этим, обнаружено значительное снижение численности бактерий из группы симбионтов, продуцирующих полезные короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) и поддерживающих гомеостаз кишечника: *Lactobacillus gasseri* и *Lactobacillus rhamnosus*, *Bacteroides eggerthii* и *Bacteroides vulgatus* (рис. 3) [13,14].

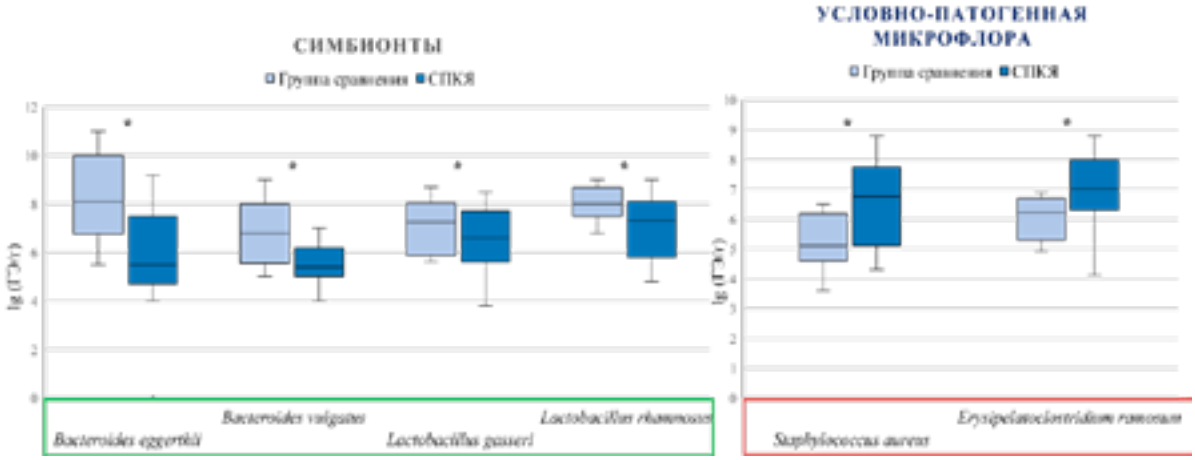


Рисунок 3. Титр представителей симбионтных микроорганизмов и УПМ при СПКЯ и в группе сравнения (*p<0,05).

С целью количественной оценки отдельных групп труднокультивируемых анаэробных бактерий был проведен анализ КМ методом ПЦР. В результате дополнительно выявлено снижение численности бактерий рода *Prevotella* и группы *Clostridium leptum*, продуцирующих КЖК на фоне увеличения УПМ рода *Staphylococcus* (рис. 4).

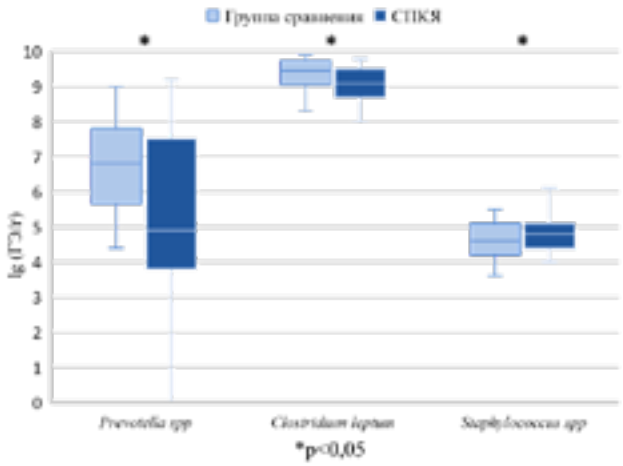


Рисунок 4. Титры симбионтных бактерий и УПМ в группах СПКЯ и сравнения

При проведении корреляционного анализа установлена отрицательная связь симбионтов с провоспалительным цитокином IL-6: *Lactobacillus* (r=-0,3, p=0,026), *Bifidobacterium* (r=-0,4, p=0,001), *Bacteroides* (r=-0,3, p=0,006). Положительная корреляция наблюдалась между уровнем IL-6 и титром бактерий вида *E. ramosum* (r=0,3, p=0,023), что может указывать на тесную взаимосвязь нарушений КМ с развитием хронического субклинического воспаления и подтверждает выдвинутую Tremellen K. И др. [7] теорию о дисбиозе КМ, который провоцирует гиперсекрецию провоспалительных цитокинов и приводит к инсулинорезистентности, ассоциированной с яичниковой гиперандрогенией.

Гетерогенность СПКЯ затрудняет не только его диагностику, но и разработку оптимальных схем терапии. Наряду с КОК, достаточно широко используют инсулиносенситайзер метформин, оказывающий плейотропное воздействие. Хорошо известно о его положительном воздействии на метаболизм глюкозы за счет снижения глюконеогенеза в печени, уменьшения ее абсорбции в кишечнике, увеличения ее периферической утилизации, а также посредством увеличения секреции глюкагоноподобного пептида-1 [15]. Показано, что метформин может также снижать выраженность хронического воспаления как косвенно за счет улучшения метаболических параметров, так и напрямую за счет своего противовоспалительного действия [16]. Тем не менее, регулярный менструальный цикл на фоне терапии метформином восстанавливается лишь у 45-60% женщин с СПКЯ, в связи с чем продолжается поиск предикторов ответа на терапию. Недавние исследования свидетельствуют о положительном влиянии метформина на состав КМ [17], ассоциированном с коррекцией метаболических параметров при СД 2 типа, однако исследования на пациентах с СПКЯ практически отсутствуют.

В проведенной работе на фоне 6 месяцев терапии метформином полный эффект в виде регуляции цикла был достигнут у 50/92 (54,4%) пациенток, частичный (увеличение числа менструаций) – у 14/92 (15,2%) пациенток, у 28/92 (30,4%) сохранялась олиго- или аменорея.

Отмечена положительная динамика гормональных параметров в виде снижения уровня ЛГ и тестостерона 22% и андростендиона на 33%. Уровень ПССГ повысился в среднем на 29%. Наряду с этим отмечалась коррекция метаболической дисфункции в виде снижения уровня инсулина натощак и индекса HOMA почти на 30% и частоты ИР и гиперинсулинемии на 38% и 19% соответственно. На этом фоне отмечалась тенденция к снижению маркеров хронического субклинического воспаления. Количество пациенток с повышенным уровнем СРБ сократилось в 1,5 раза, с повышением IL-6 – в 3,5 раза (таблица 1).

Таблица 1

Гормональный и метаболический профиль до и после терапии метформином.

Лабораторные показатели	**Пациенты, прошедшие 6-месячный курс терапии (n=92)**		
	До терапии	**После терапии**	**p-value**
АМГ, нг/мл	13,48±6,54	9,32±6,16	0,011
ЛГ, мЕд/мл	13,43±6,23	10,35±5,45	0,021
ФСГ, мЕд/мл	5,47±1,67	5,32±1,87	0,346
Т общий, нмоль/л	2,01±0,81	1,58±0,4	0,019
Т свободный, нмоль/л	3,04±1,92	1,67±1,07	0,016
Андростендион, нмоль/л	17,56±9,1	11,68±4,95	0,01
ИСА	5,33±1,03	4,03±1,17	0,19
ПССГ, нмоль/мл	41,01±14,40	53,05±20,46	0,002
Глюкоза натощак, нг/мл	5,03±0,38	5,09±0,66	0,704
Глюкоза через 2 часа после нагрузки, ммоль/л	6,0 ±1,4	5,2 ± 1,3	<0,001
Инсулин натощак, мкЕд/мл	11,08±5,04	8,08±2,69	0,004
Инсулин через 2 часа после нагрузки, мкМЕ/мл	55,2 (35,1;78,2)	52,3 (25,4;104,0)	0,05
Индекс HOMA	2,75±1,9	1,49±0,98	0,006
ХС, ммоль/л	5,0±0,6	4,37±0,71	0,120
ТГ, ммоль/л	0,8±0,14	1,49±1,11	0,641
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,4	1,8±0,2	0,409

ЛПНП, ммоль/л	2,8±0,6	2,6±0,5	0,230
КА	2,5±0,9	2,2±0,5	0,641
ИР, %	43/92 (46,7%)	8/92 (8,7%)	<0,001
Гиперинсулинемия, %	37/92 (40,2%)	20/92 (21,7%)	0,007
НТГ, %	15/92 (16,3%)	11/92 (11,9%)	0,398
Дислипидемия, %	34/92 (36,9%)	29/92 (31,5%)	0,438
Повышение СРБ, %	29/92 (31,5%)	17/92 (18,5%)	0,042
Повышение IL-6, %	39/92 (42,4%)	11/92 (11,9%)	<0,001

Анализ КМ после 6 месяцев терапии выявил снижение двух видов УПМ *C. perfringens* и *C. difficile* в среднем на 39,5% и 7,5% соответственно, а также увеличение симбионта *Akkermansia muciniphila* (являющейся продуцентом КЖК) на 43,5%. Была отмечена также тенденция к увеличению количества *Clostridium leptum gr.*, которое было снижено до лечения (p=0,07). Такие изменения в составе КМ, наряду с выявленным снижением выраженности хронического субклинического воспаления могут указывать на возможную взаимосвязь действия метформина с коррекцией состава КМ, поскольку восстановление баланса микробных сообществ, вероятно, должно снизить уровень эндотоксемии и как следствие – воспаления и ИР. Аналогичным образом Wu H. и соавт. исследовали прямое воздействие метформина на КМ in vitro, продемонстрировав увеличение количества *Akkermansia muciniphila* на фоне терапии, а также с помощью трансплантации КМ пролеченных метформином доноров стерильным мышам, что привело к улучшению толерантности к глюкозе. Авторы предполагают, что такой эффект опосредован регуляцией экспрессии генов, кодирующих металлопротеины бактерий кишечника, а также его влиянием на метаболиты КМ, в том числе КЖК [17].

Оценка бактериального состава кишечника в группах в зависимости от эффекта терапии на менструальный цикл показала, что у пациенток с полным эффектом происходит значительное снижение количества УПМ рода *Staphylococcus* и видов *C. perfringens* и *C. difficile* на фоне увеличения симбионта *Akkermansia muciniphila* на 40%. При отсутствии эффекта не было значимого снижения количества условных патогенов, титр *Akkermansia muciniphila* увеличился только на 10,2% (рис. 5).

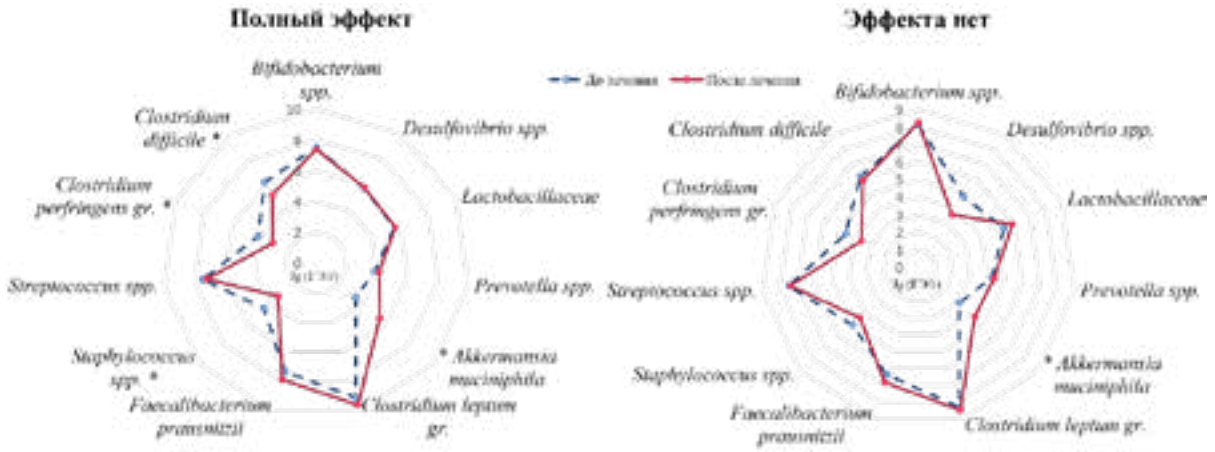


Рисунок 5. Сравнительный анализ бактериального состава микробиоты кишечника у пациенток с полным эффектом терапии и без эффекта

С целью поиска возможных предикторов эффективности терапии метформином, проанализированы исходные эндокринно-метаболические параметры и состав КМ. Различия обнаружены только по более низкому уровню АМГ и высокой численности симбионтных бактерий *C. leptum, A. muciniphila, F. prausnitzii* у пациенток с полным эффектом терапии.

Для оценки диагностической значимости возможных предикторов эффективности терапии метформином проведен ROC-анализ. Наибольшей прогностической значимостью, наряду с АМГ, обладало количественное содержание в КМ симбионта *C. leptum gr*. Установлено, что исходный уровень АМГ ниже 12,7 нг/мл (AUC=0,697, чувствительность = 74,4%, специфичность = 60,7%) и увеличение количества *C. leptum gr.* более 10^9 ГЭ/г (AUC=0,812, чувствительность = 66,7%, специфичность = 84,2%) можно рассматривать в качестве предикторов терапии метформином.

Таким образом, в видовом составе кишечной микробиоты при СПКЯ наблюдается увеличение численности условно-патогенных микроорганизмов (*Clostridium perfringens gr, Erysipelatoclostridium ramosum и Staphylococcus aureus*), ассоциированное с хроническим субклиническим воспалением, на фоне снижения колонизационных показателей *Clostridium leptum gr* (включая *F. prausnitzii*), симбионтных видов *Bacteroides* spp. и ряда других бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты и поддерживающих колонизационную резистентность кишечника. Шестимесячный курс терапии метформином приводит к восстановлению ритма менструаций у 54,4% пациенток на фоне улучшения эндокринно-метаболических параметров, маркеров хронического воспаления и коррекции состава кишечной микробиоты: снижения колонизационных показателей условных патогенов *Clostridium perfringens, Clostridium difficile* и *Stapylococcus* spp. на фоне повышения симбионта *Akkermansia muciniphila*. Исходный уровени АМГ ниже 12,7 нг/мл и увеличение численности

группы *Clostridium leptum* в составе кишечной микробиоты >9 lg (ГЭ/г) можно рассматривать в качестве предикторов эффективности терапии метформином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Teede H. J. [и др.]. Recommendations from the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome // Human Reproduction. 2023. № 9 (38). С. 1655–1679.
2. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86(6):2453-2455. https://doi.org/10.1210/jcem.86.6.7580
3. Flint HJ. Obesity and the gut microbiota. J Clin Gastroenterol. 2011;45 Suppl:S128-S132. https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31821f44c4
4. Esteve E, Ricart W, Fernández-Real JM. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2011;14(5):483-490. https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328348c06d
5. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. Nature. 2012;489(7415):242-249. https://doi.org/10.1038/nature11552
6. Zhao X, Jiang Y, Xi H, Chen L, Feng X. Exploration of the relationship between gut microbiota and polycystic ovary syndrome (PCOS): a Review. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2020;80(2):161-171. https://doi.org/10.1055/a-1081-2036
7. Tremellen K, Pearce K. Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA)-a novel theory for the development of polycystic ovarian syndrome. Med Hypotheses. 2012;79(1):104-112. https://doi.org/10.1016/j.mehy.2012.04.016
8. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. PLoS One. 2010;5(2):e9085. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009085
9. Guo Y, Qi Y, Yang X, et al. Association between polycystic ovary syndrome and gut microbiota. PLoS One. 2016;11(4):e0153196. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153196
10. Kelley ST, Skarra DV, Rivera AJ, Thackray VG. The gut microbiome is altered in a letrozole-induced mouse model of polycystic ovary syndrome. PLoS One. 2016;11(1):e0146509. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146509
11. Kauffman AS, Thackray VG, Ryan GE, et al. a novel letrozole model recapitulates both the reproductive and metabolic phenotypes of polycystic ovary syndrome in female mice. Biol Reprod. 2015;93(3):69. doi:10.1095/biolreprod.115.131631
12. Mandić AD, Woting, A, Jaenicke T et al. Clostridium ramosum regulates enterochromaffin cell development and serotonin release. Sci Rep. 9, 1177 (2019). https://doi.org/10.1038/s41598-018-38018-z

13. Lee HY, Park JH, Seok SH et al. Human originated bacteria, Lactobacillus rhamnosus PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. Biochim Biophys Acta. 2006;1761(7):736-744. https://doi.org/10.1590/s0004-2730200900020000

14. Lee SJ, Bose S, Seo JG, et al. The effects of co-administration of probiotics with herbal medicine on obesity, metabolic endotoxemia and dysbiosis: A randomized double-blind controlled clinical trial. Clin Nutr. 2014;33(6)973-81. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.12.00

15. Rena G., Hardie D. G., Pearson E. R. The mechanisms of action of metformin. // Diabetologia. 2017. № 9 (60). С. 1577–1585.

16. Bharath L. P., Nikolajczyk B. S. The intersection of metformin and inflammation. // American journal of physiology. Cell physiology. 2021. № 5 (320). С. C873–C879.

17. Wu, H., Esteve, E., Tremaroli, V. et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. Nat Med 23, 850–858 (2017). https://doi.org/10.1038/nm.4345

Информация об авторах:

Кириллова Екатерина Дмитриевна – м.н.с. отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава Российской Федерации.

Адрес: 117997, Россия, Москва ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (917) 533-48-00. E-mail: emiroshina.md@gmail.com

Чернуха Галина Евгеньевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава Российской Федерации.

Адрес: 117997, Россия, Москва ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (985) 999-60-00. E-mail: c-galina1@yandex.ru

Припутневич Татьяна Валерьевна – чл.-корр. РАН, д.м.н., доцент, директор института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава Российской Федерации.

Адрес: 117997, Россия, Москва ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (910) 414-56-16. E-mail: priput1@gmail.com

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ У ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

А.В. Лазарчук (Arina Vladimirovna Lazarchuk)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Кафедра акушерства, гинекологии и перинатальной медицины КИДЗ им. Н.Ф. Филатова

Введение и актуальность

Эндометриоз – это заболевание, характеризующееся наличием эндометриальных желез и стромы вне полости матки. Эндометриоз является крайне важной социально-экономической проблемой из-за высокой распространенности данной патологии среди женщин репродуктивного возраста (около 10%) [1]. К сожалению, постановка диагноза эндометриоза часто задерживается, и, согласно данным литературы, составляет около 6,7 лет для пациентов в возрасте от 18 до 45 лет [2]. Данный факт в значительной степени влияет на фертильность и качество жизни женщин.

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – это редкая форма заболевания, которая поражает до 8,9 % женщин репродуктивного возраста [3]. Эндометриоз часто приводит к различным нарушениям в репродуктивной системе и сопровождает хроническую тазовую боль. Пациентки с НГЭ подвержены различным психоэмоциональным расстройствам, включая депрессию и хроническую усталость, а также сексуальной дисфункции (в частности, диспареунии) [4]. В результате хирургического лечения у женщин может развиться постовариоэктомический синдром.

В связи с высокой частотой рецидивов НГЭ, а также снижением фертильности рекомендуется проводить реабилитационные мероприятия для женщин после хирургического лечения данной патологии. В реабилитацию должны входить не только стандартные назначения, которые, согласно клиническим рекомендациям, выключают в себя восстановительные мероприятия, медикаментозную терапию (НПВП, диеногест) и физиотерапевтические методы (магнитотерапию). Предлагается использовать персонифицированную комплексную программу «активной» реабилитации для женщин с НГЭ, в которую входят 3 различных типа мероприятий (Рис. 1).

Целью данного исследования была оценка влияния пассивной и активной реабилитации на состояние женщин с болевой и безболевой формой НГЭ после хирургического лечения.

Материалы и методы. В проспективное когортное сравнительное рандомизированное исследование было включено 160 пациентов репродуктивного возраста с НГЭ от 18 до 49 лет

(средний возраст 42,4 ± 3,7). Всем участникам исследования было выполнено оперативное вмешательство. После исключения 8 участников, которые отказались от проведения реабилитационных мероприятий, оставшиеся пациенты были рандомизированы на 4 группы. В группу IA вошли 49 пациенток с болевой формой НГЭ, в группу IIA - 23 пациентки с безболевой формой НГЭ; группа IБ и IIБ – 55 женщин с болевой формой и 25 пациенток с безболевой формой соответственно. Группам IA и IIA предлагалось проведение «активной» реабилитации, а группам IБ и IIБ – «пассивной». Для объективной клинико-лабораторной оценки эффективности мероприятий у всех пациенток были взяты следующие маркеры: CA-125, CA 19,9, ФНО и IL-6. Статистический анализ проводился в программах Microsoft Excel 2016 и SPSS Statistics. Мы лценили средние значения и стандартное отклонение, а для оценки статистической значимости был применен t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

Результаты. Поскольку эндометриоз ассоциирован с повышением экспрессии воспалительных медиаторов, в частности интерлейкина-6 и ФНО, в раннем послеоперационном периоде было обнаружено их повышение, особенно выраженное у пациенток с болевой формой (группы IA и IБ). Однако, в ходе "активной" реабилитации, динамика показателей IL-6 являлась различной. В группе IA после первого месяца было отмечено существенное снижение уровня IL-6 с 26,9±11,2 пг/мл до 14,1±8,3 пг/мл и дальнейшее снижение до 6,7±5,1 пг/мл в течение 12 месяцев. Это значительно ($p<0,01$) ниже показателей в группе IB: 26,4±12,0 пг/мл на 5-9 день после операции, 24,0±14,1 пг/мл через месяц, и 12,7±6,7 пг/мл через год. Схожая динамика была выявлена и у женщин с безболевой формой НГЭ: в группе IIA было отмечено 25,6±12,77 пг/мл IL-6 на 5-9 сутки после операции, затем этот показатель снижался до 15,0±8,4 пг/мл через месяц, и до 5,1±2,7 пг/мл за год. Это значительно ($p<0,01$) отличается от показателей в группе IIB: 23,4±10,2 пг/мл на 5-9 день после операции, 19,4±10,3 пг/мл через месяц и 10,3±6,93 пг/мл через 12 месяцев (Рис. 2).

В группе IA было отмечено снижение уровня ФНО с 26,8±11,2 пг/мл до 14,1±8,3 пг/мл в течение 1 месяца и дальнейшее снижение до 6,7±3,7 пг/мл в течение 12 месяцев. Это значительно ($p<0,01$) ниже показателей в группе IB: 26,4±12,0 пг/мл на 5-9 день после операции, 24,0±14,1 пг/мл через месяц, и 12,7±6,7 пг/мл через год. Схожая динамика была выявлена у женщин с безболевой формой: в группе IIA с 25,5±12,8 пг/мл на 5-9 сутки после операции, затем до 15,0±8,4 пг/мл через месяц, и 5,1±2,7 пг/мл за год. Показатели в группе IIB статистически значимо отличаются от показателей в группе IIA ($p<0,05$).

Уровни CA-125 (Рис. 3) и CA-19,9 (Рис. 4) снижались у всех 4 групп, однако динамика оказалась статистически не значимой, без различий между группами.

Выводы. После оценки уровня биохимических маркеров в группах IA и IIA, в которых применялись «активные» реабилитационные мероприятия, было обнаружено статистически значимое снижение всех показателей ($p<0,01$) в то время, как у пациенток IB и IIB групп «пассивной» оно оказалось менее выраженным ($p<0,05$). Однако разница в динамике CA-125 и CA-19,9 между всеми группами пациенток оказалась статистически незначимой. Пациенткам с НГЭ рекомендуется проводить «активную» программу реабилитации, в основе которой лежат информационная поддержка, изменение образа жизни, применение психотерапии, использование физиотерапевтических методов, фармакологическая поддержка, лечение в санаторно-курортных условиях, а также предупреждение развития рецидивов.

Рисунок 1. Схема комплекса «активной» реабилитации для пациенток с НГЭ, перенесших хирургическое лечение

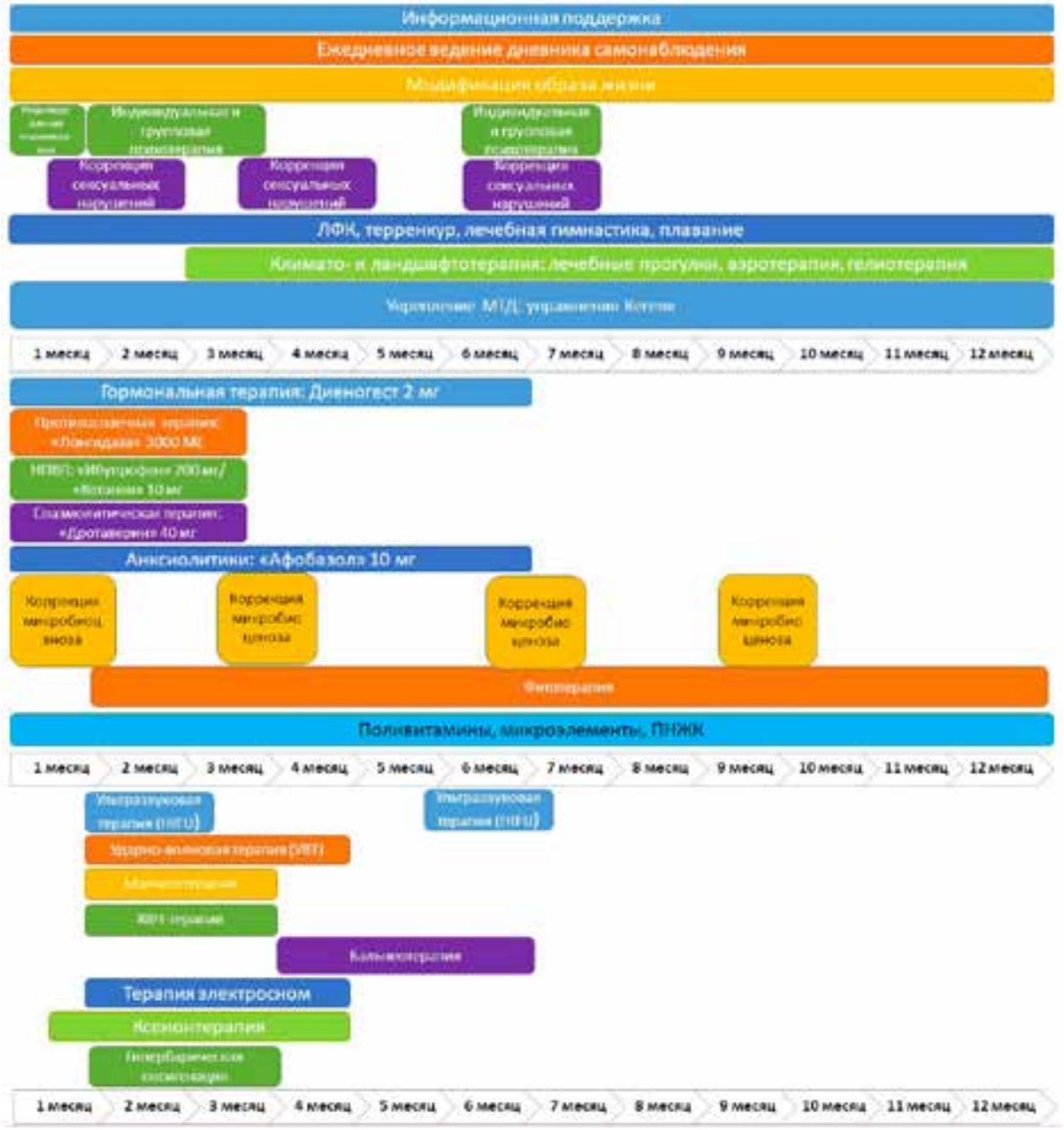


Рисунок 2. Динамика показателей уровня IL-6

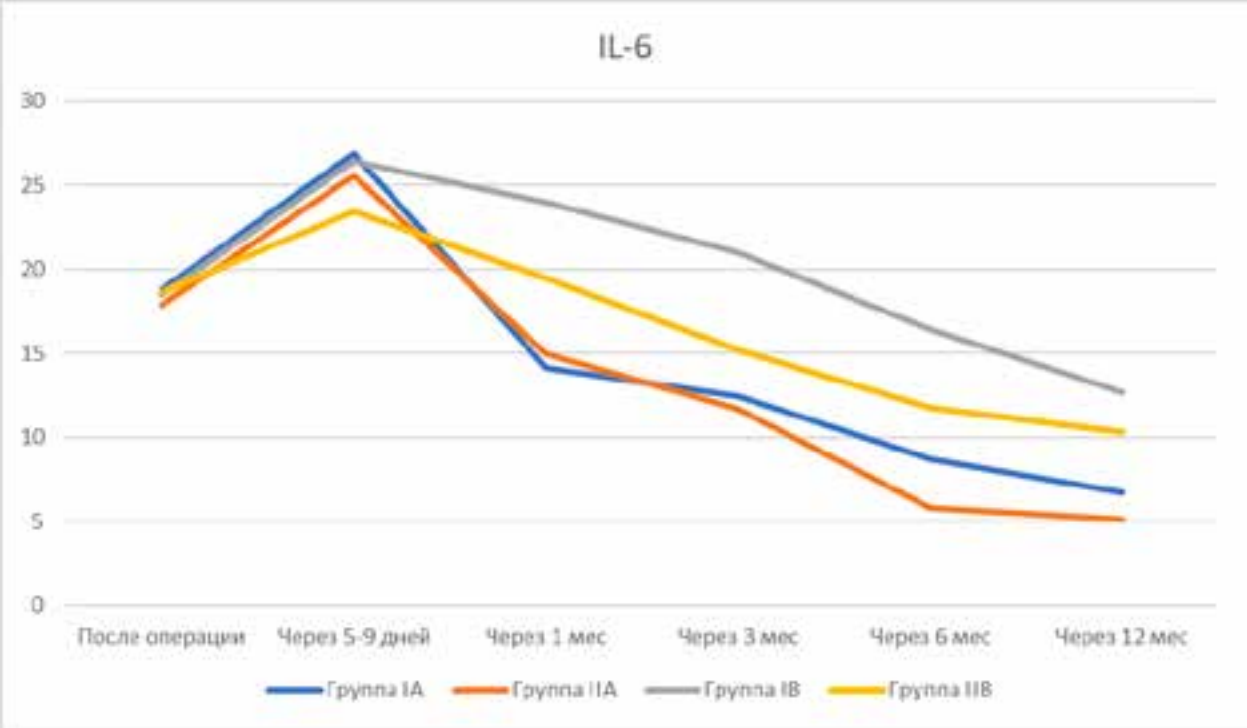


Рисунок 3. Динамика показателей уровня ФНО

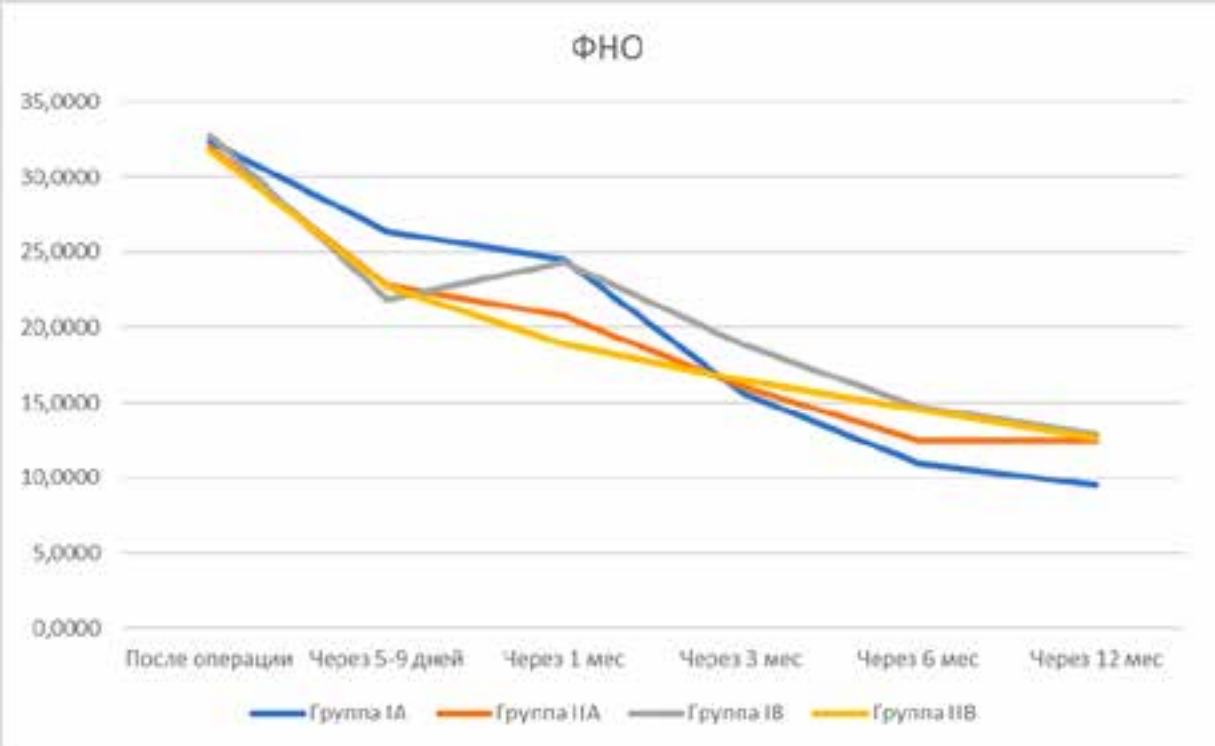


Рисунок 4. Динамика показателей уровня СА-125

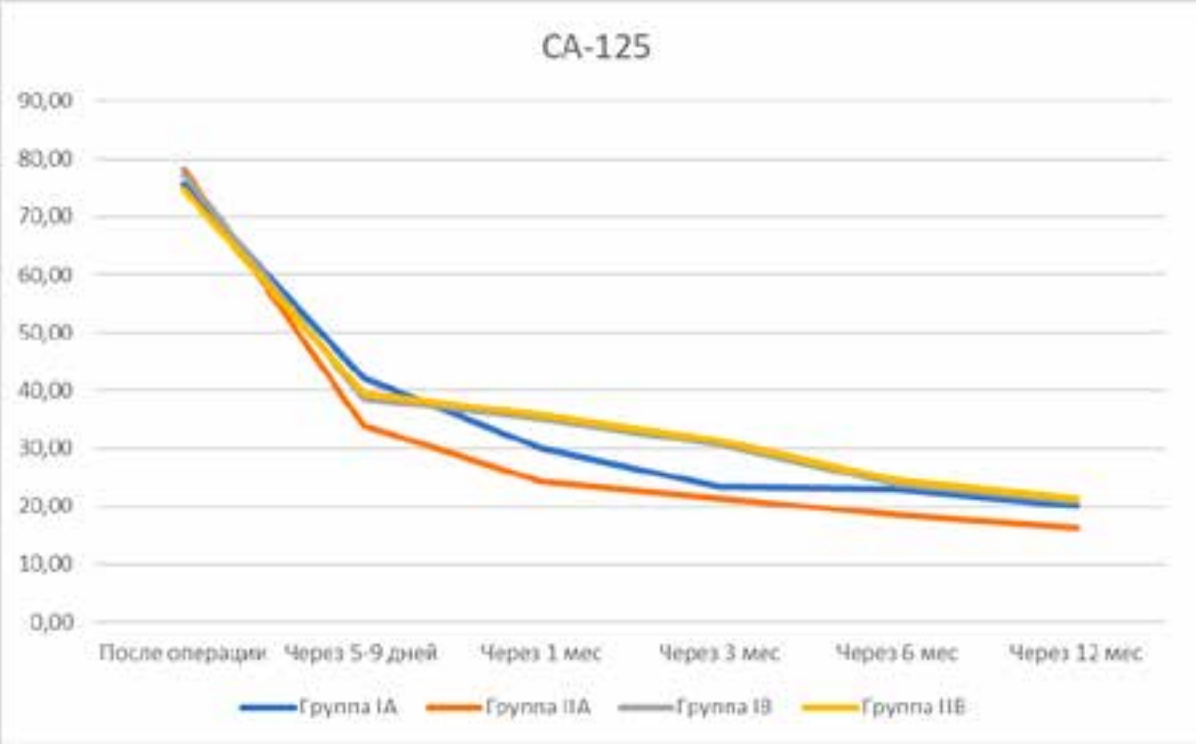
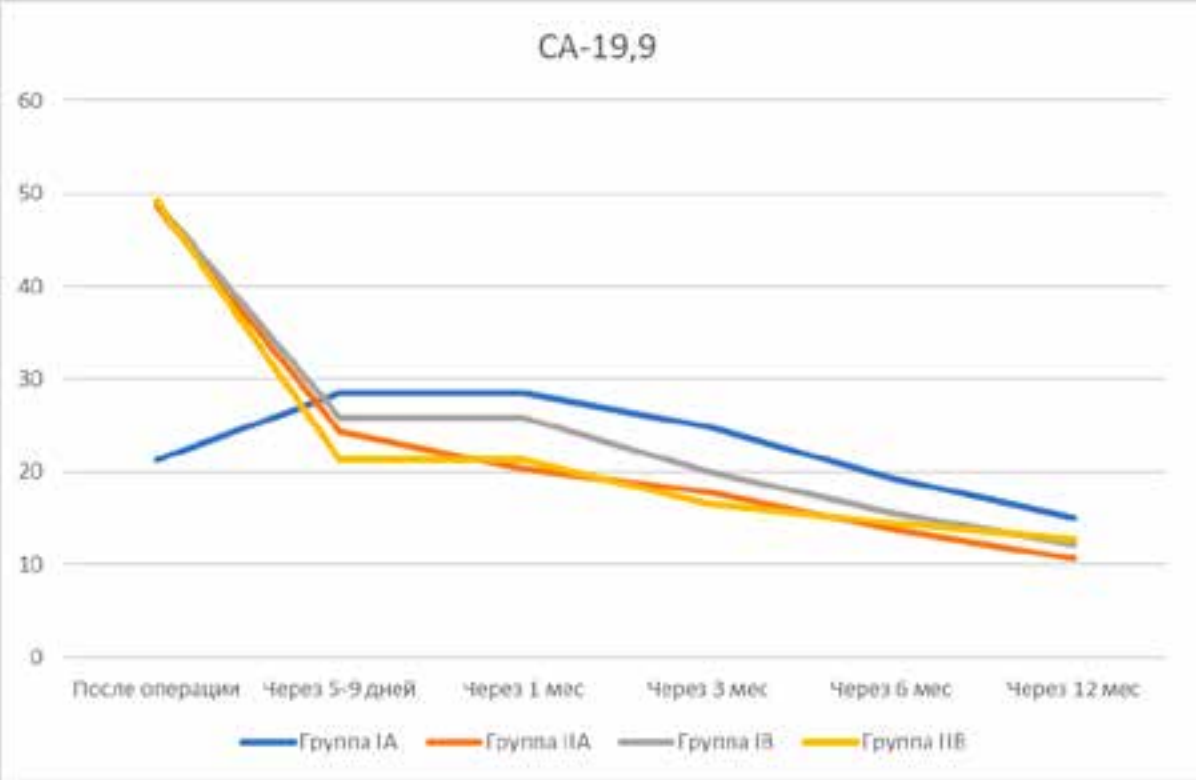


Рисунок 5. Динамика показателей уровня СА-19,9



ЛИТЕРАТУРА

1. Giudice L.C., Kao L.C. Endometriosis//Lancet (London, England), 2004, T. 364, N 9447, C. 1789-1799.

2. Nnoaham K.E., Hummelshoj L., Webster P., d'Hooghe T., Nardone F. de C., Nardone C. de C., Jenkinson C., Kennedy S.H., Zondervan K.T. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries//Fertility and sterility, 2011, T. 96, Impact of endometriosis on quality of life and work productivity, N 2, C. 366-373.e8.

3. Fedele F., Fatta S.D., Busnelli A., Bulfoni A., Salvatore S., Candiani M. Rare extragenital endometriosis: pathogenesis and therapy//Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology, 2022, T. 49, Rare extragenital endometriosis, N 2, C. 43.

4. Begovich E., Solopova A.G., Khlopkova S.V., Son E.A., Idrisova L.E. Quality of life and psychoemotional status in patients with external genital endometriosis//Obstetrics, Gynecology and Reproduction, 2022, Vol. 16, No. 2, P. 122-133.

Заявка №1 (приоритетная)

на участие в работе Форума молодых учёных "Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра"

Авторы:

Люшнина Дарья Геннадьевна, Шубина Екатерина, Тетруашвили Нана Картлосовна, Бокерия Екатерина Леонидовна

Authors:

Lyushnina Daria G., Shubina Jekaterina, Tetruashvili Nana K., Bokeriya Ekaterina L.

Ученая степень / звание: -

Организация:

Название доклада:

Пренатальное генетическое обследование при неиммунной водянке плода

Научное направление, к которому относится доклад:

инновационные методы и технологии в медицинской деятельности

Для корреспонденции:

d_lyushnina@oparina4.ru

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ПРИ НЕИММУННОЙ ВОДЯНКЕ ПЛОДА

Д.Г. Люшнина, Е. Шубина, Н.К. Тетруашвили, Е.Л. Бокерия

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

Неиммунная водянка плода (НИВП) характеризуется как патологическое скопление жидкости в двух и более серозных полостях плода (асцит, плевральный выпот, гидроперикард), и, согласно данным современных литературных источников, включает генерализованный отек кожи (более 5 мм) и кистозную гигрому шеи плода [1–4]. В основе неиммунной водянки плода лежат различные причины – более 150 нозологий, которые включают: сердечно-сосудистые (20,1%), гематологические (9,3%), хромосомные (9,0%), синдромные (5,5%), лимфатическая дисплазия (15,0%), врожденные метаболические нарушения (1,3%), инфекции (7,0%), торакальные аномалии (2,3%), пороки развития мочевыводящих путей (0,9%), плацента-ассоциированные патологии (4,1%), аномалии желудочно-кишечного тракта (1,3%) и другие (3,6%) [5, 6]. Однако возможно сочетание различных причин в каждом конкретном случае. Согласно данным мировой литературы причины НИВП остаются неизвестными в 40 – 81% случаев, что в ряде наблюдений связано с неполным обследованием. При повторных случаях НИВП по данным разных авторов до 28% случаев возникают подозрения на наличие моногенной патологии [7].

Перинатальная смертность при НИВП колеблется в широких пределах и достигает 98% [8]. Значительные перинатальные риски, сопровождающие беременности с НИВП, варьируются от антенатальной гибели плода до преждевременных родов и неонатальной смерти, при этом риски неблагоприятных исходов вариабельны в зависимости от этиологии данного состояния [9–13].

На территории Российской Федерации распространенность и структура причин НИВП не определена ввиду отсутствия крупных исследований по данной проблеме. Более чем в половине случаев НИВП этиология остается неизвестной после стандартных методов обследования, таких как ультразвуковое исследование плода с допплерометрией, эхокардиография плода, инфекционный скрининг, а также кариотипирование плода.

Актуальность исследования заключается в том, что своевременное определение причин НИВП создает возможность выбора правильной тактики ведения беременности,

прогнозирование ее исхода, своевременного консультирования родителей о прогнозе и риске повторных случаев рождения ребенка с НИВП.

Цель исследования: определение вклада генетического фактора в развитие НИВП для дальнейшей оптимизации тактики ведения беременности на основании проведения генетического обследования, включая секвенирование полного экзома.

Материалы и методы

Было проведено проспективное исследование на базе 2-го отделения акушерского патологии беременности (2ОАПБ), Института репродуктивной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ АГП им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России (далее - Центр). Критериями включения являлись: возраст пациенток 18-45 лет, диагностированная НИВП, доступность биоматериала родителей, информированное согласие на участие в исследовании. Критерии не включения: отказ от участия в исследовании, многоплодная беременность, соматические заболевания матери в стадии декомпенсации, а также наличие противопоказаний для выполнения инвазивных диагностических процедур.

Исследование включало анализ данных 43 беременных, обратившихся на пренатальный консилиум Центра с НИВП в гестационном сроке от 11 до 30 недель в период с сентября 2021 по ноябрь 2023 гг. Все пациентки были консультированы генетиком на пренатальном консилиуме и госпитализированы в 2ОАПБ с целью проведения инвазивной пренатальной диагностики (ИПД). В условиях стационара проводились анкетирование, общеклинические методы обследования, инструментальные методы диагностики, такие как экспертное УЗИ с измерением максимальной систолической скорости кровотока в средней мозговой артерии, инфекционный скрининг и ИПД, включающая биопсию ворсин хориона или трансабдоминальный амниоцентез с последующим проведением генетического тестирования биоматериала плода и родителей. Генетическое тестирование на первом этапе включало исследование биоматериала на выявление аномалий хромосом 13, 18, 21, X, Y с помощью STR маркеров методом полимеразной цепной реакции для фрагментного анализа (QF-ПЦР) и хромосомный микроматричный анализ (ХМА). При наличии хромосомной патологии диагностический поиск прекращался. В случаях отсутствия хромосомных анеуплоидий, проводились секвенирование полного экзома, в том числе в формате «трио», для подтверждения наличия вариантов, обнаруженных при проведении экзомного секвенирования, а также обследование членов семьи – секвенирование по Сэнгеру.

Результаты

Всего был обследован биоматериал 43 плодов. В 24/43 (55,8%) случаев была диагностирована генетическая причина НИВП. В 11/43 (25,5%) была подтверждена хромосомная патология: 6/43 (13,9%) – синдром Шерешевского-Тернера (45, X), 3/43 (6,9%) – синдром Дауна (трисомия по 21 хромосоме), 1/43 (2,3%) – синдром Эдвардса (трисомия по 18 хромосоме), 1/43 (2,3%) – синдром Ди Джорджи. Вышеперечисленные синдромы были установлены методами генетического тестирования QF-ПЦР и ХМА. В связи с отсутствием хромосомных нарушений в 32/43 (74,4%) случаев, генетическое исследование было расширено до проведения полноэкзомного секвенирования, секвенирования по Сэнгеру и секвенирования полного экзома в формате «трио». В результате тестирования в 13/43 (30,2%) были диагностированы редкие генетические и моногенные заболевания, среди которых в 6/43 (13,9%) – лизосомные болезни накопления: 2/43 (4,6%) – синдром Слая (мукополисахаридоз VII типа – варианты в гене GUSB); 2/43 (4,6%) - болезнь Ниммана-Пика (варианты в гене NPC1); 1/43 (2,3%) – болезнь Гоше (варианты в гене GBA); 1/43 (2,3%) – галактосиалидоз (варианты в гене CTSA). Редкие генетические заболевания в 7/43 (16,3%) случаях включали: 2/43 (4,6%) случаев – дилатационная кардиомиопатия (варианты в гене TNNC1, варианты в гене MYH7); 2/43 (4,6%) – синдром Нунан (RAS-патии); 2/43 (4,6%) – варианты в гене PIEZO1; и в 1/43 (2,3%) случаев митохондриальное заболевание – болезнь Ли (Рис.1).

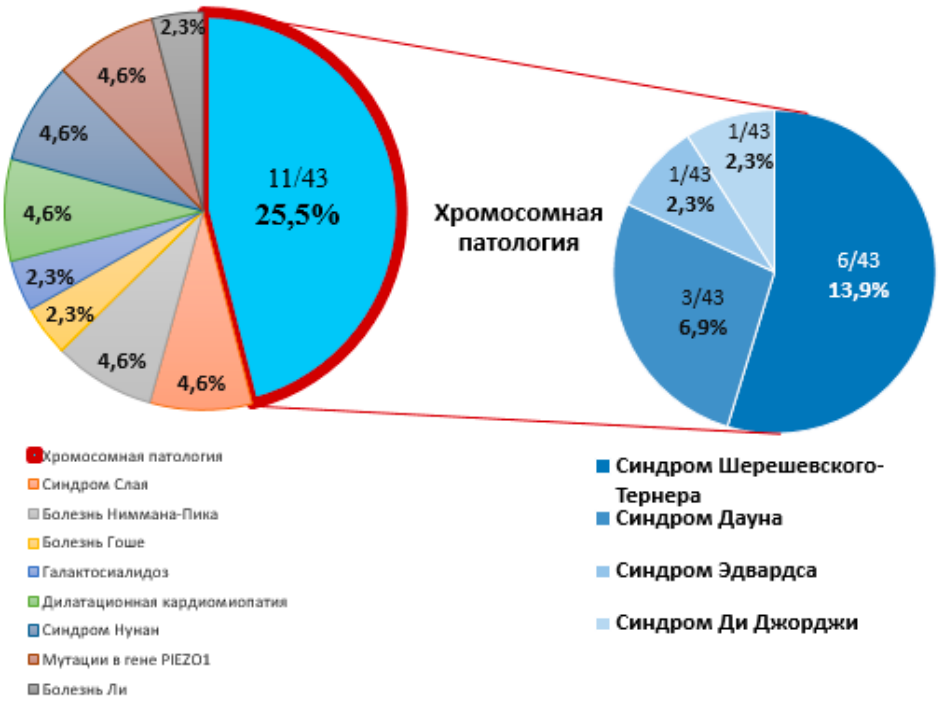


Рис. 1. Генетические причины НИВП

В 5/43 (11,6%) случаев были обнаружены VUS-мутации (гетерозиготные варианты для аутосомно-рецессивного заболевания – варианты с неясной клинической значимостью): 2/43 (4,6%) - дефицит пируваткиназы (вариант в гене PKLR); 1/43 (2,3%) – врожденный нефротический синдром (вариант в гене NPHS1); 1/43 (2,3%) – вариант в гене FBN1, описанная у пациентов с синдромом Марфана; 1/43 (2,3%) – вариант в гене KLF1, описанная у пациентов с врожденной дизэритропоэтической анемией.

В результате в 19/43 (44,2%) случаев на данном этапе обследования генетической причины установлено не было, или были обнаружены VUS-мутации (варианты с неясной клинической значимостью), что открывает возможности для дальнейшего обследования данной группы пациентов – проведения полногеномного секвенирования. На основании полученных данных было установлено, что методы диагностики различаются по своей информативности, и включение полноэкзомного секвенирования в протокол обследования позволяет дополнительно выявить причину НИВП в 30,2% случаев. Стандартное генетическое обследование – QF-ПЦР, которое обычно выполняется в медицинских учреждениях, позволило выявить причину только в 23,3% случаев НИВП. Внедрение метода ХМА позволяет увеличить выявляемость хромосомной патологии пренатально с 23,3% до 25,6% случаев.

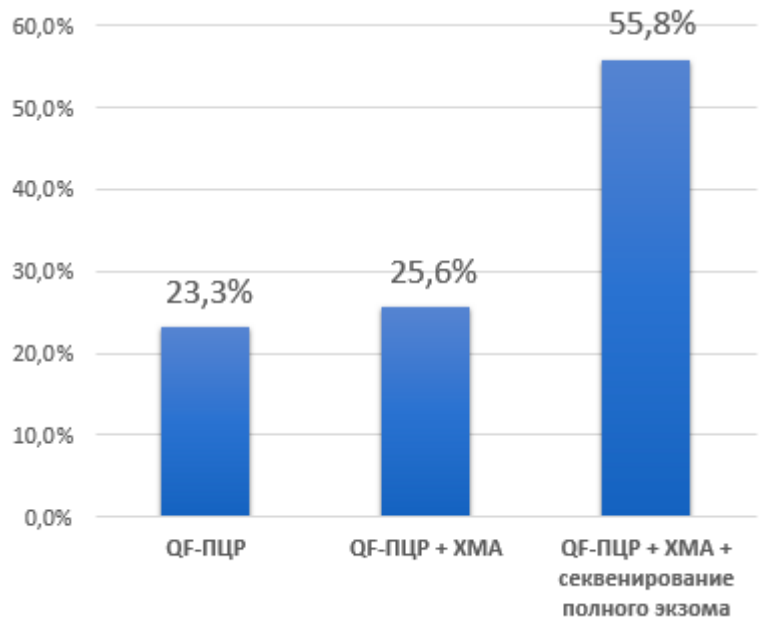


Рис. 2. Сравнительный анализ методов генетического тестирования при НИВП

Проведение полноэкзомного секвенирования расширяет возможности диагностики до 55,8% случаев в дополнение к стандартными генетическими методами, таким как QF-ПЦР и ХМА (Рис.2).

Таким образом, проведенное исследование позволило расширить возможности генетического консультирования данных пациентов. В 3 случаях, когда был установлен низкий риск повтора НИВП, обусловленной хромосомными нарушениями, пациентки без применения методов ВРТ самостоятельно забеременели и уже родили здоровых детей. В 4 случаях при установленном аутосомно-рецессивном наследовании моногенных заболеваний, пациенткам было рекомендовано ЭКО с проведением преимплантационной генетической диагностики (ПГТ-М), и уже 3 пациентки находятся в программе ВРТ после генетической диагностики эмбрионов. В 8 случаях при не выявленной генетической причине и отсутствии грубых аномалий развития плодов беременности были пролонгированы и рождены здоровые дети, из них в 3 случаях – при ранней манифестации НИВП до 14 недель. В 1 случае при диагностике митохондриального заболевания, пациентке было рекомендовано использование донорской яйцеклетки для планирования следующей беременности.

Заключение

Тщательный подход к генетическому тестированию является неотъемлемой частью постановки диагноза при НИВП. Всем плодам с неиммунной водянкой необходимо проводить кариотипирование с целью исключения хромосомной патологии. Современные методы генетического тестирования, такие как ХМА и полноэкзомное секвенирование, в том числе в формате «трио», позволяют расширить понимание генетических причин НИВП. На пренатальном этапе с использованием новых методов удалось установить генетическую причину в 24/43 (55,8%) случаев НИВП, из которых в половине случаев (13/27 (48,2%)) диагноз был поставлен на основании проведения полноэкзомного секвенирования. При выявлении у плода аутосомно-рецессивных и аутосомно-доминантных мутаций, унаследованных от одного из потенциальных родителей, открывается возможность для проведения ЭКО с преимплантационной генетической диагностикой для подбора эмбриона без вариантов, обнаруженных у плода, и предотвращения повторных случаев неиммунной водянки у данной семейной пары.

Согласно результатам исследования, была доказана диагностическая ценность полноэкзомного секвенирования для обнаружения генетических отклонений при НИВП, особенно в случаях повторной НИВП. Согласно данным мировой литературы, список новых

генов, ассоциированных с НИВП, постоянно расширяется и со временем эффективность пренатальной диагностики, вероятно, улучшится и станет доступнее.

Таким образом, проведение полноэкзомного секвенирования у супружеских пар с НИВП и неблагоприятным исходом беременности позволяет прогнозировать риск выявленной патологии при последующей беременности, предоставляя семье возможность репродуктивного выбора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Norton M.E., Chauhan S.P., Dashe J.S. Society for maternal-fetal medicine (SMFM) clinical guideline #7: nonimmune hydrops fetalis. Am J Obstet Gynecol. 2015; 212(2):127–39. https://dx.doi.org/*10.1016/j.ajog.2014.12.018*.

2. Iskaros J., Jauniaux E., Rodeck C. Outcome of nonimmune hydrops fetalis diagnosed during the first half of pregnancy. Obstet Gynecol. 1997; 90(3):321–5. https://dx.doi.org/*10.1016/s0029-7844(97)00290-1*.

3. Guo D., He S., Lin N., Dai Y., Li Y., Xu L., et al. Genetic disorders and pregnancy outcomes of non-immune hydrops fetalis in a tertiary referral center. BMC Med Genomics. 2023; 16(1):83. https://dx.doi.org/*10.1186/s12920-023-01505-y*.

4. Sparks T.N., Lianoglou B.R., Adami R.R., Pluym I.D., Holliman K., Duffy J., et al. Exome Sequencing for Prenatal Diagnosis in Nonimmune Hydrops Fetalis. N Engl J Med. 2020; 383(18):1746–56. https://dx.doi.org/*10.1056/NEJMoa2023643*.

5. Bellini C., Donarini G., Paladini D., Calevo M.G., Bellini T., Ramenghi L.A., et al. Etiology of non-immune hydrops fetalis: An update. Am J Med Genet A. 2015; 167A(5):1082–8. https://dx.doi.org/*10.1002/ajmg.a.36988*.

6. Кадырбердиева Ф.З., Шмаков Р.Г., Бокерия Е.Л., Тетруашвили Н.К., Костюков К.В., Донников А.Е., et al. Неиммунная водянка плода: основные причины. Акушерство и гинекология. 2019; 11:186–91. https://dx.doi.org/*10.18565/aig.2019.11.186-191*.

7. Mardy A.H., Chetty S.P., Norton M.E., Sparks T.N. A system-based approach to the genetic etiologies of non-immune hydrops fetalis. Prenat Diagn. 2019; 39(9):732–50. https://dx.doi.org/*10.1002/pd.5479*.

8. Sileo F.G., Kulkarni A., Branescu I., Homfray T., Dempsey E., Mansour S., et al. Non-immune fetal hydrops: etiology and outcome according to gestational age at diagnosis. Ultrasound Obstet

Gynecol. 2020; 56(3):416–21. https://dx.doi.org/*10.1002/uog.22019*.

9. Derderian S.C., Jeanty C., Fleck S.R., Cheng L.S., Peyvandi S., Moon-Grady A.J., et al. The many faces of hydrops. J Pediatr Surg. 2015; 50(1):50–4; discussion 54. https://dx.doi.org/*10.1016/j.jpedsurg.2014.10.027*.

10. Berger V.K., Sparks T.N., Jelin A.C., Derderian C., Jeanty C., Gosnell K., et al. Non-Immune Hydrops Fetalis: Do Placentomegaly and Polyhydramnios Matter? J Ultrasound Med. 2018; 37(5):1185–91. https://dx.doi.org/*10.1002/jum.14462*.

11. Gedikbasi A., Oztarhan K., Gunenc Z., Yildirim G., Arslan O., Yildirim D., et al. Preeclampsia due to fetal non-immune hydrops: mirror syndrome and review of literature. Hypertens pregnancy. 2011; 30(3):322–30. https://dx.doi.org/*10.3109/10641950903323244*.

12. Wei X., Yang Y., Zhou J., Zhou X., Xiong S., Chen J., et al. An Investigation of the Etiologies of Non-Immune Hydrops Fetalis in the Era of Next-Generation Sequence-A Single Center Experience. Genes (Basel). 2022; 13(12)https://dx.doi.org/*10.3390/genes13122231*.

13. Кадырбердиева Ф.З., Шмаков Р.Г., Бокерия Е.Л., Костюков К.В., Тетруашвили Н.К. Эффективность применения алгоритма обследования на антенатальном этапе при неиммунной водянке плода. Акушерство и гинекология. 2020; 7:71–8. https://dx.doi.org/*10.18565/aig.2020.7.71-78*.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ УЛУЧШЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МИОМЕТРИЯ ПРИ МЕТРОПЛАСТИКЕ У ПАЦИЕНТОК С ВРАСТАНИЕМ ПЛАЦЕНТЫ

А.А. Михеева, Т.А. Ярыгина, Рогачевский О.В., Шмаков Р.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

В слепое рандомизированное контролируемое испытание были включены 100 женщин, прооперированных в связи с врастанием плаценты с ноября 2020 по июль 2022 года. Пациентов, удовлетворявших критериям включения, методом простой рандомизации распределяли в одну из двух групп: II основную (n = 48), в которой было проведено интрамиометральное инъекционное введение аутологичной PRP и II группу сравнения без применения PRP (n = 52). Условиями для забора крови и получения положительного эффекта от PRP выступали значимые критерии не включения: сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С, системные заболевания крови и коагулопатии, гемоглобин менее 110 г/л, тромбоциты менее 150 $x10^9$/л, аномалии и дисфункции тромбоцитов, прием НПВП, антикоагулянтная и антиагрегантная терапия. Пациенткам обеих групп через 12 недель после операции было проведено обследование: контрольное УЗ-исследование согласно новому разработанному протоколу, на основании дельфийского консенсуса, анализ клинико-анамнестических данных и качества жизни.

Был проведен анализ клинических, анамнестических данных, результатов инструментальных и лабораторных исследований. Оценивали такие показатели, как возраст матери, предшествующие операции на матке, информацию о предыдущих беременностях (число, предшествующих операций кесарева сечения), объем кровопотери, длительность операции. Всем пациенткам с подозрением на врастание плаценты проводилось оперативное лечение в объеме срединной лапаротомии, донного кесарева сечения, комплексного компрессионного гемостаза, баллонной тампонады матки, метропластики. После восстановления утеротомного разреза участницам группы вмешательства вводили аутологичную PRP в область шва (как с верхней, так и с нижней стороны гистеротомии между децидуальной тканью и миометрием), в то время как II группа сравнения не получала обогащенную тромбоцитами аутоплазму.

Средний возраст исследуемой популяции (n=100) составил 34 (5) лет и подавляющее большинство пациенток были повторнородящими. Исследуемая когорта женщин была однородна. Не было выявлено существенных различий с точки зрения возраста, веса, роста, паритета, степени инвазии плаценты и ИМТ (таблица 1). При первом оперативном

родоразрешении частота кесарева сечения по экстренным показаниям составила 29/48 (60,4%) во II основной группе и 25/52 (48%) во II группе сравнения. Среди показаний к экстренному родоразрешению в предыдущей беременности наиболее часто встречались: дистресс плода в родах, за которым следовала отслойка нормально расположенной плаценты, клинически узкий таз и слабость родовой деятельности. Общие параметры двух групп вмешательства представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика общих параметров сравниваемых групп

Показатель		**II основная группа с PRP (n = 48)**	**II группа сравнения (n = 52)**	**p-value**
Возраст, лет		35 (5)	34 (5)	0,457
Беременность по счету		4 (3-5)	4 (3-5)	0,663
КС по счету		3 (2-3)	3 (2-3)	0,505
Рост, см		164 (157-166)	162 (155-167)	0,927
Вес, кг		72 (64-76)	70 (65-83)	0,209
ИМТ, кг/м2		27 (24-30)	26 (24-31)	0,060
Объем кровопотери, мл		800 (700-1075)	800 (700-1400)	0,407
Длительность операции, мин		81 (70-92)	84 84 (72-92)	0,720
Частота КС в экстренном порядке		29 (60,4%)	25 (48,0)	0,404
Показания к первой операции КС в экстренном порядке	Дистресс плода	6 (20,6%)	10 (40%)	0,299
	Отслойка нормально расположенной плаценты	3 (10,3%)	6 (24%)	0,490
	Клинически узкий таз	8 (27,6%)	2 (8%)	0,113
	Слабость родовой деятельности	12 (41,3%)	7 (28%)	0,202
Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; используемый метод: Хи квадрат Пирсона				

Всем пациентам, участвующим в исследовании, проводилось стандартное ультразвуковое исследование (аппараты «Aloka SSD-680», «Toshiba-38A»).

Для повышения эффективности выявления врастания плаценты при проведении УЗИ использовали: высокочастотный конвексный датчик (5–9 МГц); наполнение мочевого пузыря (около 200–300 мл) у беременной, избегание чрезмерного надавливания на переднюю брюшную стенку беременной трансабдоминальным датчиком [1].

Кроме того, интраоперационно выполняли УЗИ во время оперативного родоразрешения при врастании плаценты для определения местоположения края плаценты и принятия решения относительно места разреза на матке.

Ультразвуковую оценку рубца на матке после органосохраняющей операции при врастании плаценты проводили через 12 недель. Всем пациенткам, вошедшим в рандомизированное исследование (n=100), проводили трансвагинальное УЗИ органов малого таза. Целью данного этапа работы было выявление пациенток, имеющих УЗИ-признаки локального истончения миометрия в виде «ниши». Исследование зоны рубца на матке проводилось, применяя подход, описанный в Дельфийском протоколе 2019 г.

К числу основных параметров ультразвуковой оценки области рубца относятся: толщина остаточного миометрия (residual myometrial thickness (RTM) в области рубца, толщина прилегающего миометрия (adjacent myometrial thickness (AMT) [2; 3] и вычисляемый, как отношение толщины «остаточного» к толщине прилегающего миометрия, «коэффициент заживления», а также объем ниши [4]. Точное измерение и стандартизированное описание ниши в ультразвуковом протоколе являются принципиально важными для клинической оценки гинекологических симптомов, планирования хирургического лечения и последующих беременностей. На основании последнего были представлены критерии ультразвуковой оценки состояния рубца на матке у небеременных женщин.

Международным консенсусом в 2019 году были утверждены следующие понятия [5]:

1) «ниша» - идентифицированный в области рубца после КС дефект миометрия глубиной не менее 2 мм;

2) «ответвление ниши» - идентифицированная более узкая часть главной ниши, распространяющаяся по направлению к серозной оболочке и имеющая ширину меньшую, чем основная ниша. (В соответствии с наличием ответвлений выделено 3 подкласса ниш: 1- простая ниша; 2- простая ниша с одним ответвлением; 3- комплексная ниша, имеющая более одного ответвления.

3) «пузырно-влагалищная складка (VV)» - складка треугольной формы между мочевым пузырем, влагалищем и шейкой матки, определяемая при размещении внутриполостного датчика в переднем своде влагалища (рис. 1).

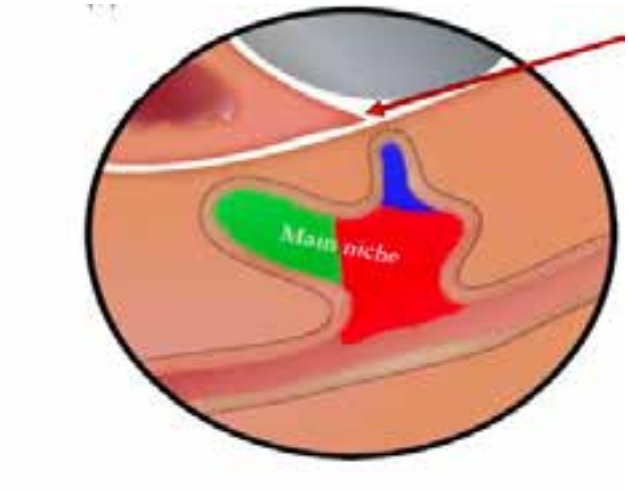


Рисунок 1. Пузырно-влагалищная складка (VV)

Клинически значимыми измерениями для оценки состояния рубца были признаны следующие:

1. длина, глубина и ширина ниши;
2. толщина остаточного миометрия (residual myometrial thickness (RTM))
3. толщина прилегающего миометрия (adjacent myometrial thickness (AMT))

Если длина или ширина основной ниши в любой точке больше таковых у ее основания, необходимо провести два измерения - у основания ниши и у точки наибольшей длины или ширины. Расстояния между нишей и VV, а также нишей и наружным зевом определены как дополнительные параметры оценки [6], наиболее ценные при планировании хирургического вмешательства.

Методика общей ультразвуковой оценки ниши [7]**:**

1. Оптимальный способ для получения корректной сагиттальной плоскости при измерении ниши - начать в срединно-сагиттальной плоскости с хорошей визуализацией цервикального канала, затем перемещая трансвагинальный датчик латерально в обе стороны.
2. Лучший способ визуализации ниши в поперечной плоскости - начать в сагиттальной плоскости и вращать датчик до поперечной плоскости, сохраняя хорошую визуализацию ниши при вращении
3. Наилучший метод обнаружения возможных ответвлений – сканирование в поперечной плоскости всего нижнего сегмента - от шейки до тела матки.
4. Для измерения ниши должна быть достигнута хорошая визуализация при изображении только нижнего сегмента матки, что относится ко всем положениям матки (антеверсия, ретроверсия или срединное положение)
5. Расположение трансвагинального датчика (в переднем или заднем своде) влияет на

правильную плоскость для измерения ниши

Целесообразность и методика дополнительных методов оценки ниши:

1. Для получения наилучшей плоскости при измерении ниши целесообразно варьировать давление с помощью трансвагинального датчика.

2. Использование ультразвуковой допплерографии не является обязательным при стандартном измерении ниши, однако может быть полезно для дифференциальной диагностики ниши матки и, например, гематомы, миоматозного узла, аденомиоза и фиброзной ткани.

В данном исследовании все оперативные абдоминальные родоразрешения проведены с применением техники турникетного гемостаза, одной бригадой хирургов по четко отработанной схеме этапов операции. По данным проведенного УЗ-исследования через 12 недель после операции из всей когорты пациенток, ниша в области рубца на матке была выявлена у 49% женщин. Из общего числа случаев с нишами 15/48 (31,2%) и 34/52 (65,4%) были во II основной группе и II группе сравнения, соответственно (P <0,001) (рис. 2).

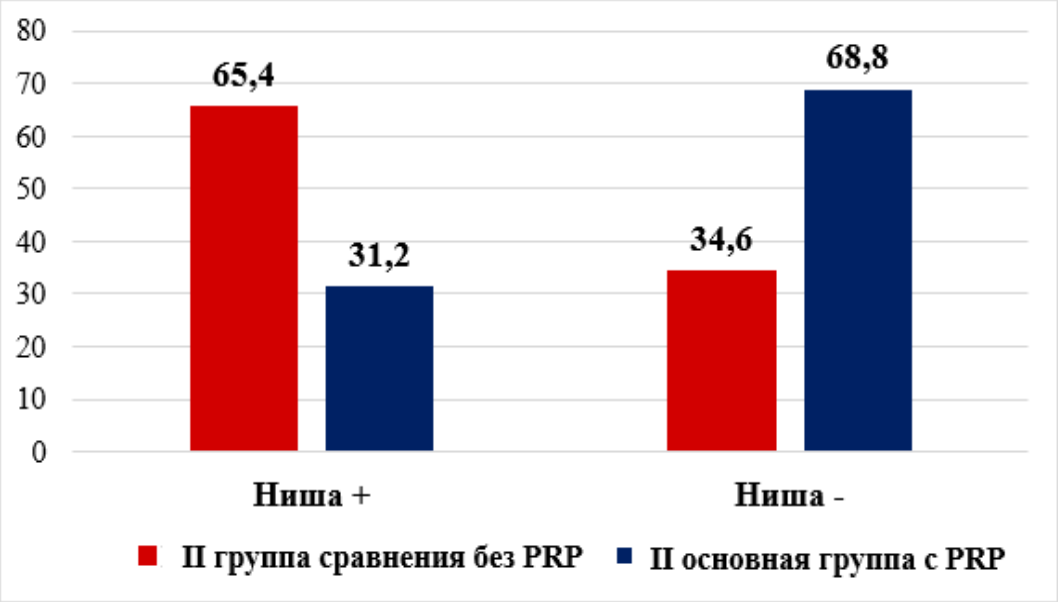


Рисунок 2. Образование ниш в сравниваемых группах (%)

Достоверно большей была отмечена толщина остаточного миометрия (RMT) в интервенционной группе и II группе сравнения 7,2 (6-10) и 4,3 (3-5) мм соответственно (p <0,001, рис. 3,4).

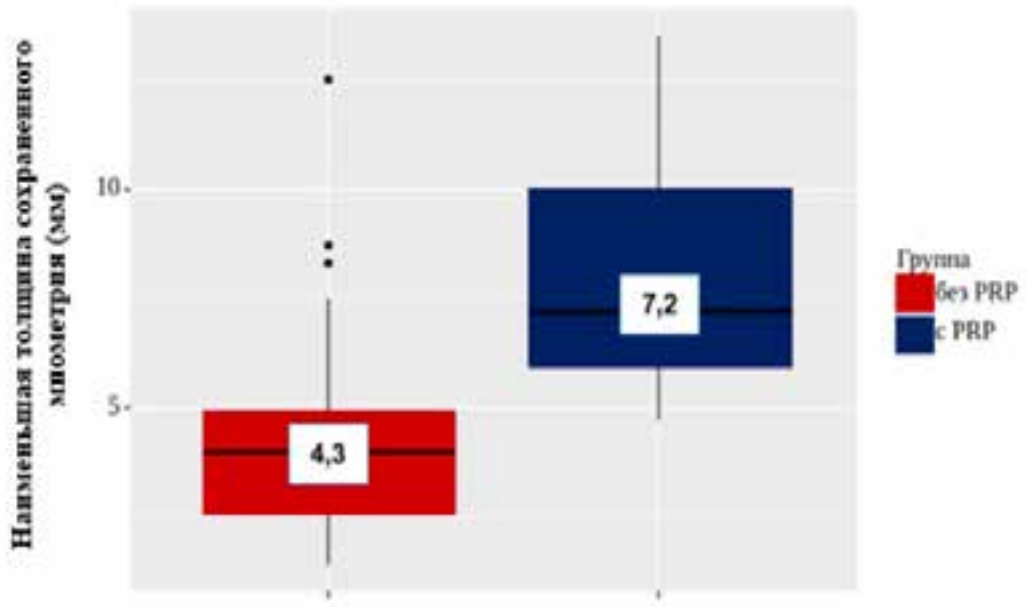


Рисунок 3. Оценка показателя толщины остаточного миометрия в сравниваемых группах. На графике представлены: медиана, интерквартильный размах, 95% ДИ и значения, выходящие за 95% ДИ

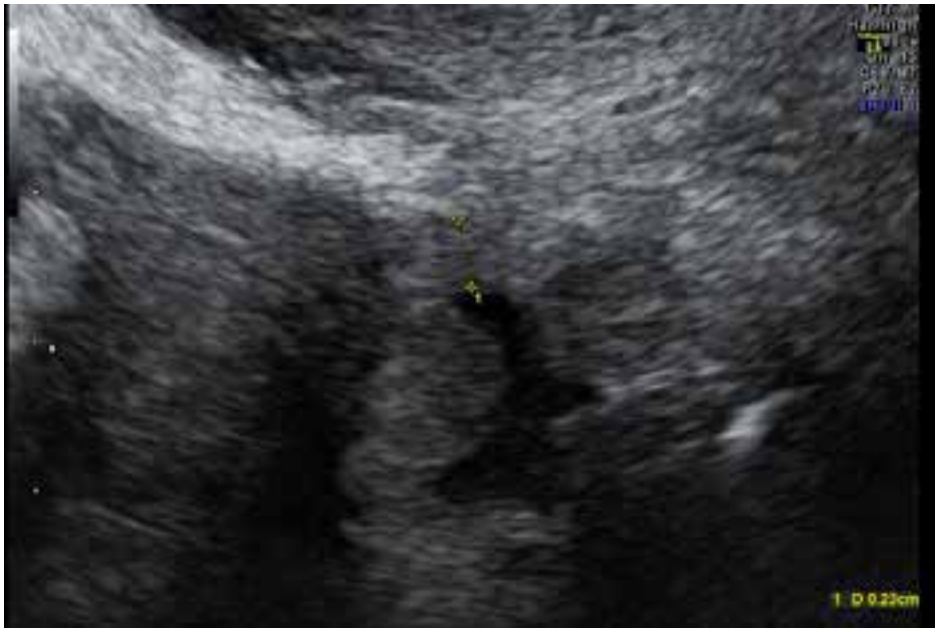


Рисунок 4. Измерение толщины остаточного миометрия показано калиперами.

Сравнивая две группы по толщине прилегающего миометрия (АМТ) нам не удалось выявить значимых различий (p = 0,143). При анализе показателей параметров ниши были

получены следующие результаты: наибольшая ширина ниши составила 7 и 11 мм (p <0,001), наибольшая глубина была 6 и 8 мм (p = 0,018) и наибольшая длина 11 и 13 (p = 0,101) мм во II основной и II группе сравнения соответственно. Объем ниши в интервенционной группе был достоверно меньше 459 против 983 в группе сравнения (p <0,001). Параметры миометрия в области рубца на матке после метропластики представлены в таблице 2.

Таблица 2

Сравнение параметров рубца на матке между группами

Показатель	**II основная группа с PRP (n = 48)**	**II группа сравнения (n = 52)**	**Мера эффекта (95% ДИ)**	**p-value**
Количество женщин с нишей в области рубца**	15 (31,2)	34 (65,4)	ОР = 0,48 (0,30; 0,76)	<0,001
Простые**	12 (80,0)	10 (29,4)	ОР = 0,28 (0,10; 0,80)	0,002
Сложные**	3 (20)	24 (70,6)		
Толщина остаточного миометрия (RTM)*	7,2 (6 -10)	4,3 (3 - 5)	РМ = 3,7 (2,0; 5,2)	<0,001
Толщина прилегающего миометрия (ATM)*	16 (3)	15 (4)	РС = 1,7 (-0,34; 3,7)	0,143
Отношение RTM/ATM*	0,5 (0,1)	0,3 (0,1)	РС = 0,2 (0,2; 0,3)	0,012
Наибольшая ширина ниши, мм*	7 (5 - 8)	11 (9 - 14)	РМ = -4,1 (-6,2; -2,4)	<0,001
Наибольшая глубина ниши, мм*	6 (5 - 8)	8 (7 - 10)	РМ = -1,8 (-1,0; -3,4)	0,018
Наибольшая длина ниши, мм*	11 (10 - 12)	13 (10 - 14)	РМ = -1,9 (-4,4; 1,2)	0,101
Объем, мм*	459 (221 - 737)	983 (825 - 1835)	РМ = -543 (-991; -329)	<0,001
* Данные представлены как медиана и нижнего и верхнего квартилей; ** Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; используемый метод: Хи квадрат Пирсона				

ОР – отношение рисков; РМ – разница медиан; РС – разница средних.

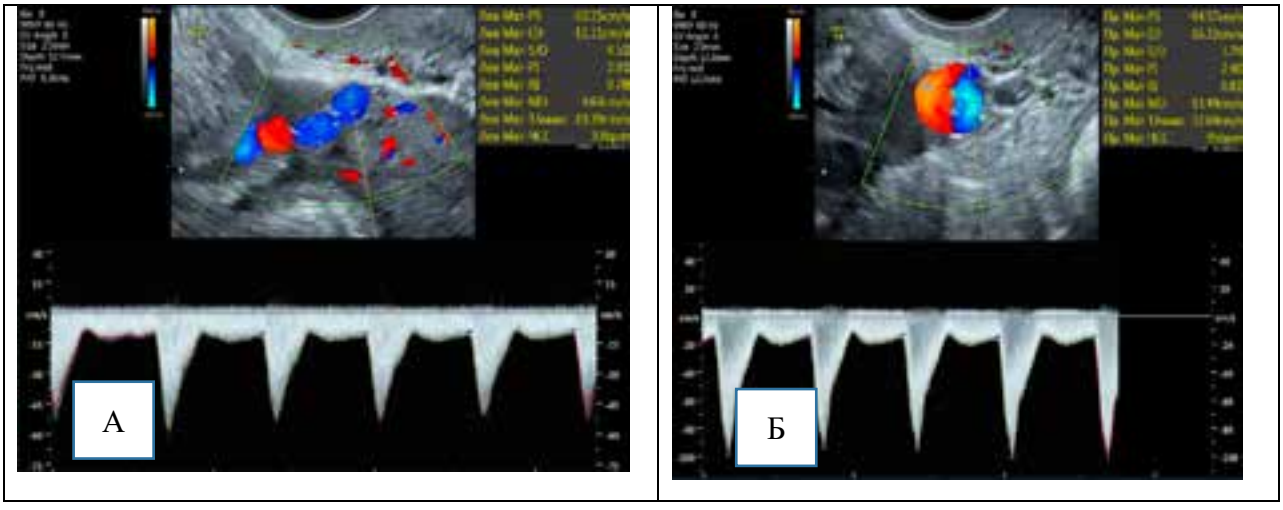
Анализируя показатели кровотока при допплерометрии через 12 недель после оперативного родоразрешения и метропластики при врастании плаценты, во II основной группе мы выявили меньшие значения индексов резистентности (IR) в правой и левой маточных артериях, в радиальной артерии области рубца и радиальной артерии по задней стенке матки, в сравнении с аналогичными показателями группы без применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (таблица 3, рис. 5).

Таблица 3

Индекс резистентности сосудов матки через 12 недель после операции

IR сосудов матки	**II основная группа с PRP (n = 48)**	**II группа сравнения (n = 52)**	**Мера эффекта (95% ДИ)**	**p-value**
Правая маточная артерия	0,77 (0,12)	0,87 (0,11)	PC = -0,08 (-0,15; -0,03)	<0,001
Левая маточная артерия	0,77 (0,10)	0,85 (0,08)	PC = -0,11; (-0,15; -0,06)	<0,001
Радиальная артерия в области рубца	0,59 (0,08)	0,76 (0,14)	PC = -0,17 (-0,23; -0,11)	<0,001
Радиальные артерии по задней стенке	0,66 (0,10)	0,83 (0,09)	PC = -0,17; (-0,22; -0,12)	<0,001

PC – разница средних



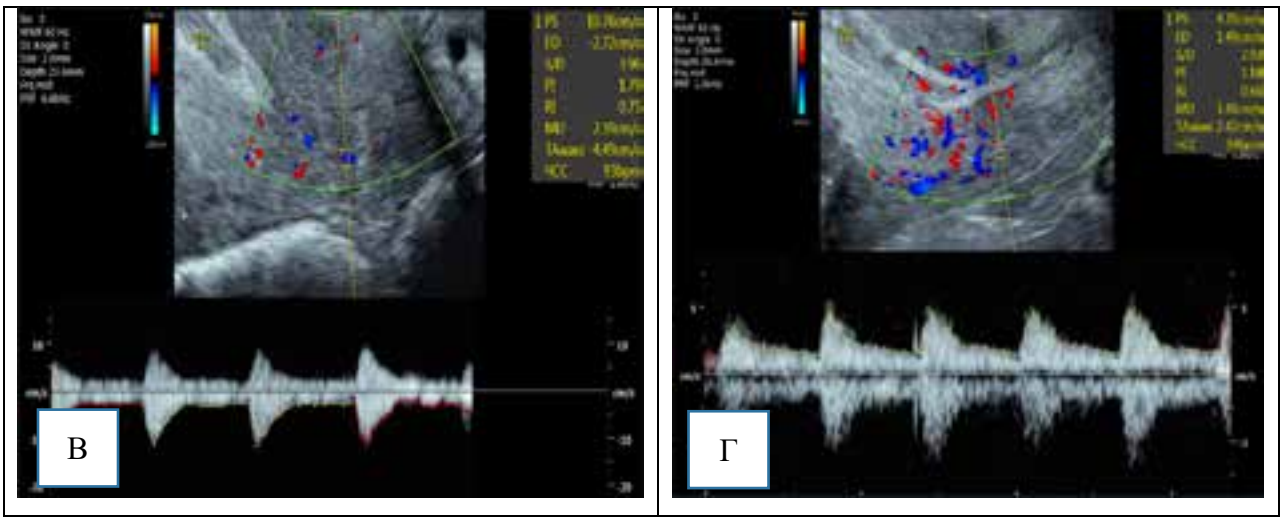


Рисунок 5. Ультразвуковое изображение в триплексном режиме А - Оценка показателей кровотока в левой маточной артерии, Б – Оценка показателей кровотока в правой маточной артерии, В - Оценка показателей кровотока в радиальных артериях по задней стенке, Г - Оценка показателей кровотока радиальной артерии в области рубца.

Научно доказано, что при концентрации тромбоцитов, превышающей исходные значения более чем в 4 раза, начинает проявляться стимулирующий эффект обогащенной аутоплазмы. Для подтверждения эффективности аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинико-диагностической лаборатории Центра производили подсчёт количества тромбоцитов в PRP на гематологическом анализаторе Sysmex XP-350, что составило 1000-2738 х 10^9/л, данные результаты совпадали и даже были в несколько раз выше результатов зарубежных исследований.

Таким образом проведенное в «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» пилотное рандомизированное исследование по применению аутологичной PRP технологии, доказало высокую эффективность и безопасность метода по сравнению с отсутствием использования данной технологии. Впервые примененный метод введения аутологичной PRP в миометрий после метропластики при врастании плаценты позволяет точечно воздействовать на область миометрия, позволяя добиться улучшения процессов регенерации, качественного заживление рубца, что обусловлено развитием ангиогенеза и пролиферацией клеток под воздействием факторов роста. Полученные нами результаты – более низкие значения индексов резистентности кровотока в сосудах матки, особенно в области рубца, свидетельствуют об эффективном процессе васкуляризации и регенерации в области рубца на матке после метропластики при использовании плазмы, обогащенной тромбоцитами.

Результаты этого пилотного исследования подтвердили эффективность аутологичной PRP как перспективного и безопасного средства для профилактики образования ниш и несостоятельности рубца. Поэтому инъекционное введение аутологичной PRP может

использоваться в качестве потенциальной профилактической меры и быть включено в рутинную практику акушеров-гинекологов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhou, X., Zhang, T., Qiao H. et al. Evaluation of uterine scar healing by transvaginal ultrasound in 607 nonpregnant women with a history of cesarean section / H. et al. Zhou, X., Zhang, T., Qiao // BMC Women's Health. – 2021. – P. 199.
2. No. 383-Screening, Diagnosis, and Management of Placenta Accreta Spectrum Disorders. / S. R. Hobson, J. C. Kingdom, A. Murji [et al.] // Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC. – 2019. – Vol. 41. – № 7. – P. 1035-1049.
3. Placenta previa-accreta: Risk factors and complications / I. M. Usta, E. M. Hobeika, A. A. Abu Musa [et al.] // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2005. – Vol. 193. – № 3. – P. 1045-1049.
4. Niches after cesarean section in a population seeking hysteroscopic sterilization / L. (Lucet) F. van der Voet, T. Limperg, S. Veersema [et al.] // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2017. – Vol. 214. – P. 104-108.
5. Sonographic examination of uterine niche in non-pregnant women: a modified Delphi procedure / I. P. M. Jordans, R. A. de Leeuw, S. I. Stegwee [et al.] // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2019. – Vol. 53. – № 1. – P. 107-115.
6. Strengthening Altitude Knowledge: A Delphi Study to Define Minimum Knowledge of Altitude Illness for Laypersons Traveling to High Altitude / R. R. Berendsen, P. Bärtsch, B. Basnyat [et al.] // High Altitude Medicine & Biology. – 2022. – Vol. 23. – № 4. – P. 330-337.
7. Мартынов С.А., Адамян Л.В. Рубец на матке после кесарева сечения: терминологические аспекты / Мартынов С.А., Адамян Л.В. // Гинекология. – 2020. – Р. 22.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С АПЛАЗИЕЙ МАТКИ И ВЛАГАЛИЩА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРЕХМЕРНОГО КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ И ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ НАВИГАЦИИ

А.Ю. Попрядухин, Л.В. Адамян, А.С. Аракелян, В.Г. Быченко

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

Абастракт

Проблема стандартизации хирургического лечения при аплазии матки и влагалища остается одной из значимых задач в современной гинекологии, так как результат комплексного лечения определяет не только реализацию половой функции, но и качество жизни женщины в целом. Наличие многочисленных способов кольпопоэза и их модификаций свидетельствует о нерешенности проблемы ввиду отсутствия научно обоснованного подхода к хирургическому лечению данной категории больных. Все большую значимость приобретают способы трехмерного компьютерного моделирования анатомических объектов на дооперационном этапе, которые позволяют проводить предоперационное планирование и интраоперационную навигацию с целью определения возможности выполнения, оптимального объема и хирургического доступа планируемой реконструктивно-пластической операции с учетом анатомических особенностей структур, расположенных в зоне оперативного вмешательства.

Ключевые слова*:* пороки развития матки и влагалища, аплазия матки и влагалища, кольпопоэз, кольпопоэз из тазовой брюшины, трехмерное компьютерное моделирование, интраоперационная навигация, предоперационное планирование.

Цель исследования: оптимизация хирургического лечения пациентов с аплазией матки и влагалища на основании использования современных методов визуализации, трёхмерного компьютерного моделирования и интраоперационной навигации.

Материалы и методы: С 2016 г. по 2022 г. в гинекологическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И. Кулакова» Минздрава России проведено лечение 104 пациенток с врожденным пороком развития гениталий - аплазией матки и влагалища. Всем пациенткам проведено высокопольное МРТ с толщиной среза 1 мм с последующим построением трехмерной модели органов малого таза. Хирургическое лечение выполнено объеме: диагностическая лапароскопия, ревизия органов малого таза, при наличии условий, выполняли кольпопоэз из тазовой брюшины с проведением интраоперационной навигации по полученным данным.

Результаты: разработан клинический алгоритм трехмерного компьютерного моделирования и виртуального планирования предстоящего оперативного вмешательства по созданию неовлагалища из тазовой брюшины, который позволяет определять хирургическую тактику ведения больных с аплазией матки и влагалища, что способствует стандартизации тактики их ведения и снижению числа осложнений.

Заключение: представленный нами мультидисциплинарный подход открывает новые горизонты в лечении больных с аплазией матки и влагалища, а также дает возможность унифицировать практические навыки, используемые в деятельности хирурга при выполнении реконструктивно-пластических операций в целом, в том числе с помощью симуляционных циклов обучения.

Актуальность

Особое место в структуре пороков развития гениталий занимает аплазия матки и влагалища, встречаясь с частотой 1 на 4000 новорожденных девочек. Необходимость коррекции данного порока развития обусловлена, прежде всего, невозможностью половой жизни, что в ряде случаев побуждает пациенток прибегать к любым вариантам корригирующей терапии, независимо от возможных рисков осложнений (Адамян, Л.В. Хашукоева 1998).

Создание искусственного влагалища имеет многовековую историю. Многочисленные способы кольпопоэза и их модификации свидетельствуют о нерешенности проблемы ввиду отсутствия научно обоснованного подхода в лечении данной категории больных. В настоящее время коррекцию порока при аплазии матки и влагалища выполняют из тазовой брюшины по методике, разработанной в гинекологическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И. Кулакова» Минздрава России (Адамян Л.В., 1992). Несмотря на несомненные достижения в хирургическом лечении аплазии матки и влагалища, особое место занимают ятрогенные повреждения внутритазовых анатомических структур, которые минимизируются знанием топографической анатомии органов малого таза и внедрением новых технологий в оперативной гинекологии.

Вопрос топографо-анатомических взаимоотношений структур женского таза при аплазии матки и влагалища до настоящего времени остается мало освещенным, что связано с недостаточной изученностью строения клетчаточных пространств, мышечно-фасциальных элементов, анатомических структур малого таза и промежности, значительной вариабельностью типов порока и редкостью данной патологии. Указанные особенности в совокупности с противоречивостью терминологии, сложностью диагностики и идентификации не позволяют разработать стандартизированный подход к хирургическому лечению - созданию искусственного

влагалища. Рассматриваемая операция проводится в основном на третьем уровне оказания медицинской помощи и относится к высокотехнологичным уникальным вмешательствам.

В связи с этим все большую значимость приобретают способы трехмерного компьютерного моделирования анатомических объектов на дооперационном этапе, которые позволяют проводить предоперационное планирование с целью определения оптимального объема и хирургического доступа планируемой реконструктивно-пластической операции с учетом анатомических особенностей структур, расположенных в зоне хирургического интереса.

Применение полученных данных позволило снизить число интра- и послеоперационных осложнений и улучшить функциональные результаты оперативных вмешательств, сократить кривую обучения в освоении высокотехнологичных методик хирургического лечения и улучшить результаты выполняемых оперативных вмешательств, что будет способствовать стандартизации существующих методов создания неовлагалища.

Материалы и методы исследования

С 2016 г. по 2022 г. в гинекологическом отделении (руководитель отделения - академик РАН, д.м.н., профессор Л.В. Адамян) ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И. Кулакова» Минздрава России, проведено лечение 104 пациенток с врожденным пороком развития гениталий - аплазией матки и влагалища.

Магнитно-резонансная томография проведена в отделении лучевой диагностики (заведующий отделением – к.м.н. Быченко В.Г.), на магнитно- резонансном томографе Magnetom Harmony фирмы Siemens (Германия) с напряженностью поля сверхпроводящего магнита 3 Тл. Высокопольная магнитно-резонансная томография (МРТ) проводилась 35 больным с аплазией матки и влагалища, а также при их сочетании с пороками развития мочеполовой системы. Сканирование выполнялось по запатентованному нами протоколу, с получением объемного массива тканей в трех взаимоперпендикулярных плоскостях с толщиной срезов 1 мм. Для построения трехмерной модели области предстоящего хирургического лечения мы использовали программу «Inobitec 2.4.0» для персонального компьютера. В рамках хирургического лечения проводилось сопоставление полученных интраоперационных данных с результатами трехмерного моделирования на догоспитальном этапе, сравнивали размеры и структуру маточных рудиментов, состояние яичников, наличие сопутствующей патологии органов малого таза и брюшной полости и др.

Статистический анализ полученных данных проводили при помощи стандартных методов математико-статистической обработки с использованием программы Statistica 10.0. Различия оценивались статистически значимыми при $p<0,05$. Анализ результатов осуществлялся при

помощи статистических программ SPSSSoftwareV22.0 (США), электронных таблиц «Microsoft Excel» и Statistica 10.0. с соблюдением рекомендаций для медицинских и биологических исследований.

Результаты исследования

С целью предоперационного планирования и осуществления интраоперационной навигации у больных с аплазией матки и влагалища мы использовали трехмерные модели органов малого таза, полученные на основании индивидуальных диагностических данных (Рисунок 1).

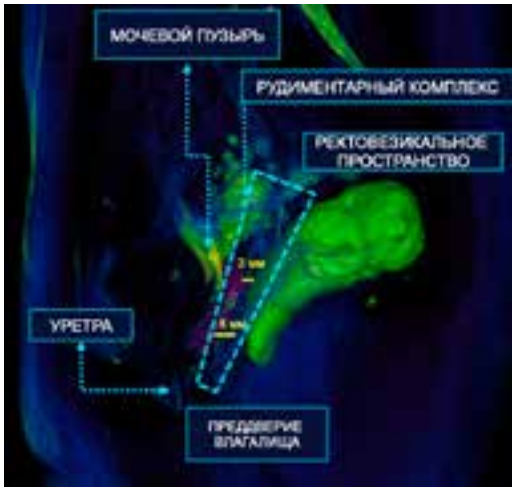


Рисунок 1. Трехмерное компьютерное моделирование органов малого таза при аплазии матки и влагалища

В данной работе впервые разработаны протокол сканирования на аппарате МРТ с индукцией магнитного поля 3 Тл с получением объемного массива тканей толщиной 1 мм, а также алгоритм трехмерного моделирования и виртуального планирования предстоящего оперативного вмешательства у больных с аплазией матки и влагалища (Рисунок 2).

Нами отмечено, что визуализация объемного массива тканей с изотропным вокселем объемом 1 мм3 при использовании высокопольной МРТ системы позволяет получать прецизионные данные в полномасштабном варианте, что представляет определенные трудности при использовании среднепольных МР-систем и невозможно на практике в случае применения низкопольных МР- томографов. Считаем, что трехмерные графические модели дают возможность всесторонне визуализировать и оценить топографо-анатомическое взаимоотношение анатомических структур женского таза при аплазии матки и влагалища, позволяя виртуально прогнозировать технические сложности, выбрать оптимальный объем и хирургический доступ планируемой реконструктивно-пластической операции, что особенно актуально у пациентов с аплазией матки и влагалища в сочетании с пороками развития органов

мочевыделительной системы (тазовая дистопия почки, удвоение мочеточника, аплазия почки и др.).

Рисунок 2. Алгоритм трехмерного моделирования и виртуального планирования кольпопоэза из тазовой брюшины у пациентов с аплазией матки и влагалища

Впервые при построении объемной модели органов малого таза у пациенток с аплазией матки и влагалища нами определена и описана анатомо-топографическая взаимосвязь между рудиментарными структурами малого таза по отношению к окружающим анатомическим объектам (прямой кишке, мочевому пузырю и др.), что сделало возможным введение термина «рудиментарный комплекс», который включает маточные трубы, маточные рудименты, мышечный тяж, а также выделенные нами две полые трубки - рудиментарное влагалище (Рисунок 3). Полагаем, что указанные рудиментарные структуры представляют собой эмбриональные протоки, дающие начало развития органов репродуктивной системы в эмбриогенезе: шейки, тела матки и верхней трети влагалища.

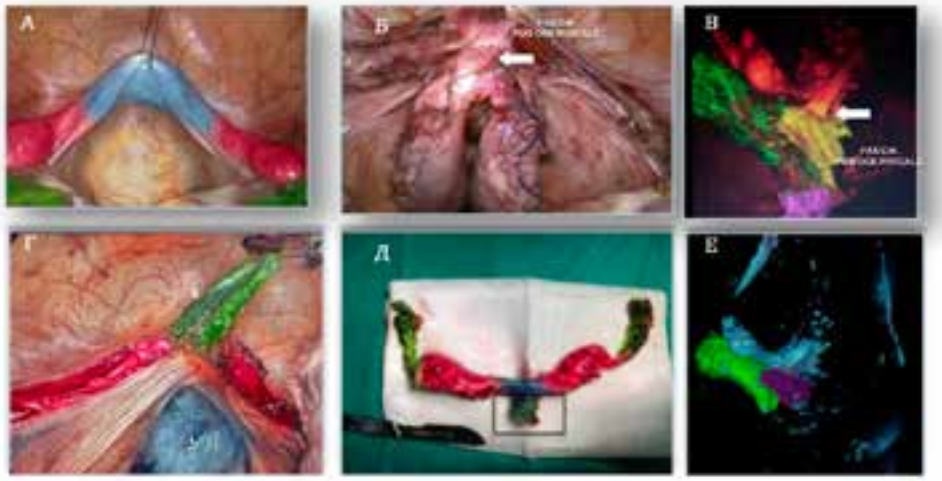


Рисунок 3. Интраоперационная визуализация (А,Б,Г,Д) и трехмерное компьютерное моделирование (В,Е) анатомических структур «рудиментарного комплекса»

Нами отмечено, что на трехмерной компьютерной модели в проекции мочевого пузыря определялось слияние красного и желтого цветов, что указывает на границу рудиментарного комплекса, а также на взаимосвязь фасциальных элементов РК с мочевым пузырем. Полученные результаты были сопоставлены с интраоперационными данными. При выполнении диссекции тканей во время выделения рудиментарного комплекса детектированы основные фасциальные структуры, находящиеся также в гипоплазированном состоянии: лобково-шеечная фасция (фасция Гальбана), кардинальные, крестцово-маточные связки и др. Необходимо отметить, что на границе рудиментарного комплекса с шейкой мочевого пузыря в проекции треугольника Льетто, а также верхней 2\3 уретры определялось слияние фасциальных элементов с тканями промежности, мочевого пузыря и ректовагинальной перегородки. В данной области отмечалась повышенная кровоточивость тканей. Данные трехмерного компьютерного моделирования и интраоперационной визуализации органов малого таза позволили предположить, что фасциальные структуры, рудиментарный связочный аппарат у больных с аплазией матки и влагалища, останавливающиеся на этапе эмбрионального развития совместно с тканями рудиментарного комплекса, соотносимы с аналоговой трехуровневой анатомией поддержки тазового дна, предложенной DeLancey (1994).

Во всех случаях по результатам трёхмерного компьютерного моделирования и интраоперационных данных определен брюшинно-промежностный апоневроз (Денонвилье) в виде поперечной сплошной белой линии, располагающейся между рудиментарными крестцово-маточными связками (Рисунок 4 Д,Е). По нашим данным, у больных с аплазией матки и влагалища он представлен двумя листками, расщепленными частично или полностью:

собственной фасцией прямой кишки - fascia mesorectalis и висцеральной пластинкой внутритазовой фасции – lamina visceralis fasciae endopelvinae. Брюшинно-промежностный апоневроз берет начало от нижней точки Дугласова кармана, направляясь каудально, не доходя до сухожильного центра промежности отдает соединительнотканные тяжи/отроги к прямой кишке и мочевому пузырю. Средняя длина брюшинно-промежностного апоневроза у больных с аплазией матки и влагалища варьирует в пределах 70,78±12,35 мм. Стоит отметить, что фиксация передней поверхности прямой кишки у больных с аплазией матки и влагалища осуществляется за счет брюшинно–промежностного апоневроза.

Реконструктивно-пластическая хирургия по созданию неовлагалища невозможна без четкого и структурированного знания особенностей строения мышечно-фасциальных элементов промежности (Рисунок 4 А,Б,В, Г). Стоит отметить, что промежность у больных с аплазией матки и влагалища имеет индивидуальное строение как со стороны мочеполовой диафрагмы (regio urogenitalis), так и диафрагмы таза (regio analis). Наиболее важной с позиции функциональной анатомии и особенностей выполнения оперативного вмешательства по созданию неовлагалища представляется мышца, поднимающая задний проход (m. levator ani).

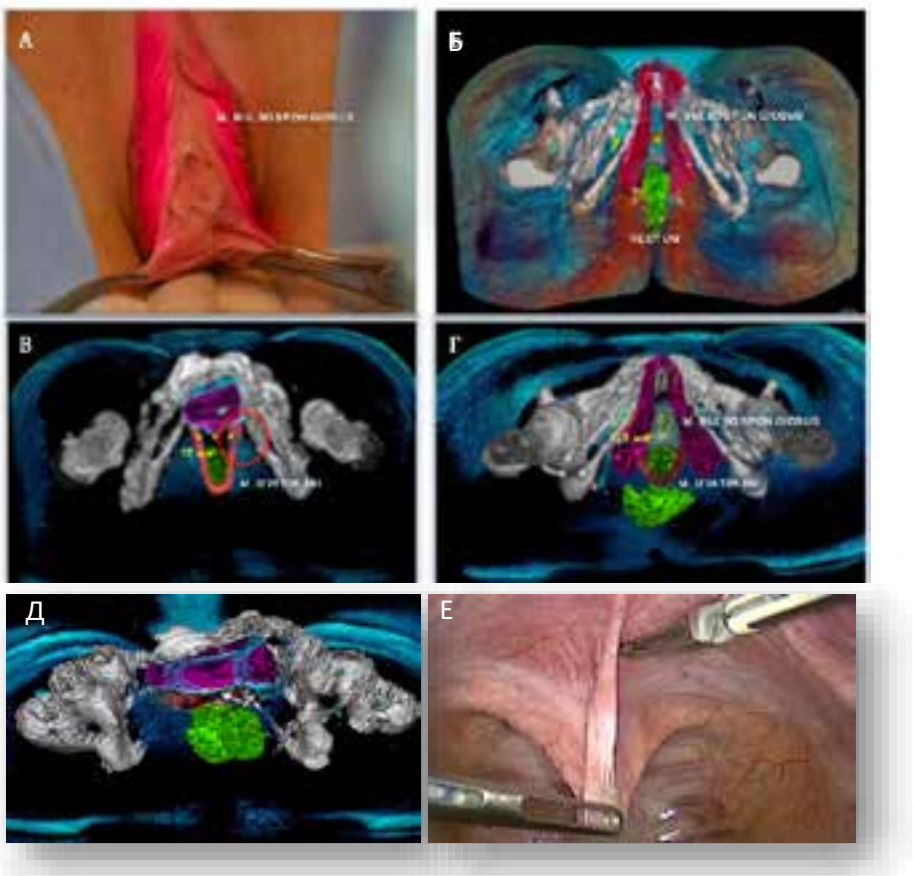


Рисунок 4. Интраоперационная навигация: А - красным цветом выделена луковично-губчатая мышца; Б - трехмерное компьютерное моделирование, красным цветом сегментирована луковично-губчатая мышца, зеленым цветом – прямая кишка, желтым цветом – уретра; В - красным цветом сегментирована m. levator ani, зеленым цветом – прямая кишка, фиолетовым цветом – мочевой пузырь; Г - фиолетовым цветом сегментирована луковично-губчатая мышца, зеленым цветом – прямая кишка, желтым цветом – уретра; Д - трехмерное компьютерное моделирование органов малого таза, стрелкой указана проекция фасции Денонвилье; Е-интраоперационная визуализация Фасции Денонвилье

За счет висцерального листка тазовой фасции (fascia endopelvina) m. levator ani у больных при аплазии матки и влагалища соединяется с противоположной порцией одноименной мышцы. Кроме того, висцеральный листок представляет собой ту часть тазовой фасции, которая с верхней поверхности m. levator ani переходит на органы таза (мочевой пузырь, прямую кишку), а также на ткани в проекции рудиментарного влагалища, формируя связки и перегородки. Необходимо учитывать, что от m. levator ani отходят фиброзно-мышечные волокна к проекции условного расположения влагалища, поэтому при сокращении данной мышцы (у женщин без порока) задняя стенка влагалища подтягивается к передней, и вместе с m. constrictor cunni суживает вход во влагалище. Считаем, что данные особенности должны учитываться при формировании входа в неовлагалища. Во время формирования задней и боковых стенок искусственного влагалища, при подшивании брюшины к слизистой преддверия влагалища дополнительно подхватываются в швы мышечно-фасциальные отроги, которые располагаются в данной области. Критерием эффективности выполнения оперативного вмешательства с учетом вышеуказанных анатомо-топографических особенностей является способность больной в послеоперационном периоде сжимать вход и канал созданного неовлагалища.

Впервые при проведении трехмерного моделирования во всех случаях детально верифицирован тазовый отдел мочеточника до места впадения в мочевой пузырь (Рисунок 5 А,Б). Кроме того, впервые у больных с тазовой дистопией единственной почки проведено трехмерное компьютерное моделирование и сегментирование анатомических структур на дооперационном этапе, что позволило определить допустимый объем планируемой нами реконструктивно-пластической операции и выбрать оптимальный минимально инвазивный доступ (Рисунок 5 В,Г). У 6 (54,1%) больных определялась тазовая дистопия почки. Из них у 4-х пациентов (45,9%) идентифицирована единственная подковообразная тазовая почка, в 1 случае в сочетании с удвоением мочеточника. Кольпопоэз из тазовой брюшины выполнен у 4-х больных.

Считаем, что при аплазии матки и влагалища в особенности при сочетании с пороками развития других органов и систем, на дооперационном этапе целесообразно проводить трехмерное компьютерное моделирование органов малого таза для определения персонифицированной хирургической тактики, оценки возможности проведения операции, выбора оптимального оперативного доступа и виртуального выполнения оперативного вмешательства с последующим проведением интраоперационной навигации.

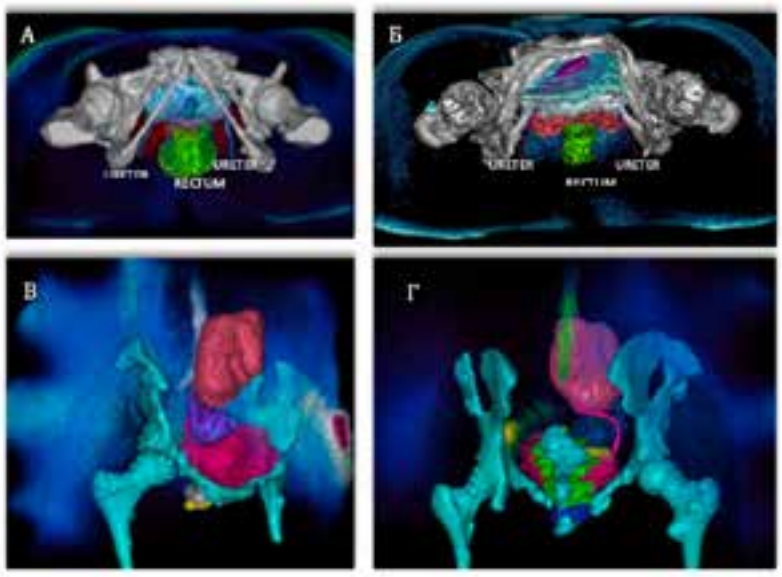


Рис. 5. Трехмерное компьютерное моделирование и сегментирование мочеточников (А,Б). Трехмерное компьютерное моделирование и сегментирование органов малого таза у пациентки с аплазией матки и влагалища в сочетании с тазовой дистопией единственной удвоенной почки: В - розовым цветом сегментирована почка, единственный мочеточник и мочевой пузырь, фиолетовым цветом – функционирующий маточный рудимент; Г - вид сзади, розовым цветом сегментирована почка, единственный мочеточник и мочевой пузырь, голубым цветом – прямая кишка, зеленым цветом – ректовезикальная клетчатка, синим цветом - m. levator ani

Впервые в рамках данной работы изучены и описаны особенности проведения оперативного вмешательства по созданию неовлагалища с использованием различных оперативных доступов с учетом анатомо-топографических особенностей. Проведен анализ длительности операции, объема кровопотери, а также интра- и постоперационных осложнений, в зависимости от морфометрических параметров клетчаточных пространств, мышечно-фасциальных элементов малого таза и промежности у пациенток с аплазией матки и влагалища.

На основании представленных результатов описательной статистики, анализа хода оперативного вмешательства и верификации пост- и интраоперационных осложнений предполагаем, что при толщине ректопузырного пространства менее 3 мм и расстоянии между

латеральными пучками мышцы, поднимающей задней проход, в проекции средней трети между прямой кишкой и шейкой мочевого пузыря менее 25 мм, целесообразно выполнение оперативного вмешательства методом тотального лапароскопического кольпопоэза из тазовой брюшины, ввиду особенностей диссекции в рамках создания канала между мочевым пузырем и прямой кишкой. В свою очередь, при толщине ректопузырного клетчаточного пространства в диапазоне от 3 до 6 мм и расстоянии между латеральными пучками мышцы, поднимающей задней проход, в проекции средней трети между прямой кишкой и шейкой мочевого пузыря более 25 мм, возможно проведение диссекции тканей по созданию канала между мочевым пузырем и прямой кишкой лапаро-промежностным доступом при условии воспроизводимости метода (опыт и квалификация хирурга). Для получения статистически достоверных данных необходимо расширения объема представленной выборки больных.

Заключение

Современная эра хирургического лечения пациентов с аплазией матки и влагалища берет свое начало с 1992 года, когда академик РАН Адамян Л.В. впервые модифицировала технику брюшинного кольпопоэза, внедрив лапароскопический доступ, что в совокупности позволило проводить все этапы хирургического лечения под визуальным контролем. В связи с отсутствием представленных данных о топографо-анатомических особенностях структур женского таза и промежности при данном виде аномалии развития гениталий, до настоящего времени хирургическая коррекция по вышеуказанной методике не была стандартизирована, отсутствовали научно-обоснованные подходы к выбору доступа, объема и возможности выполнения реконструктивно-пластической операции по созданию неовлагалища.

Изложенные результаты проведенного исследования позволили разработать новый комплексный мультидисциплинарный подход, включающий инновационные диагностические возможности МРТ с последующим трехмерным компьютерным моделированием области предстоящего оперативного вмешательства, позволяющий выбрать оптимальный объем и хирургический доступ с осуществлением последующей интраоперационной навигации.

Представленная методология открывает новые горизонты в лечении больных с аплазией матки и влагалища, а также дает возможность унифицировать практические навыки, используемые в деятельности хирурга при выполнении реконструктивно-пластических операций в целом, в том числе с помощью симуляционных циклов обучения.

ЛИТЕРАТУРА

1.Адамян Л.В., Кулаков В.И., Хашукоева А.З. Пороки развития матки и влагалища. М.Медицина. 1998;328.

2.Leila Adamyan, Assia Stepanian. Neovagina Creation with the Use of the Pelvic Peritoneum. 2015. Chapter in Female Genital Tract Congenital Malformation.

3. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Мурватов К.Д. Магнитно-резонансная томография в гинекологии. Атлас.- М.: Антидор, 1999

4.Патент № 2784282 C1 Российская Федерация, МПК A61B 6/03. Способ предоперационного исследования органов малого таза при аплазии матки и влагалища : № 2021136473 : заявл. 10.12.2021 : опубл. 23.11.2022 / А. Ю. Попрядухин, А. С. Аракелян, В. Г. Быченко, Л. В. Адамян ; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

5.Davydov, SN. Formation of vagina (colpopoiesis) from peritoneum of Douglas pouch / SN. Davydov, OD. Zhvitiashvili // Acta Chir Plast. - 1974. - N 16. - P. 35 – 41

6.Аракелян А.С., Попрядухин А.Ю., Карапетян Э.А. Сочетанные пороки развития в гинекологии. Анализ 1530 клинических наблюдений. (Собственный материал). Российский вестник акушера-гинеколога. 2021;21 (4):8893. https://doi.org/10.17116/rosakush202121041 88
7. Ксидо М.И. «Новый способ искусственного влагалища при его отсутствии»// Гинекология и акушерство, 1933, №4, стр 28-31

ГИПОТИРЕОЗ: ФАКТОРЫ РИСКА, ДИАГНОСТИКА, АКУШЕРСКАЯ ТАКТИКА

Ж.О. Преснякова
Научные руководители: М.В. Нечаева, к.м.н., ассистент, Ю.В. Тезиков, д.м.н., профессор
Самарский государственный медицинский университет. Кафедра акушерства и гинекологии ИКМ

Патология щитовидной железы при беременности в последние годы становится все более обсуждаемой проблемой, проведено множество исследований, мета-анализов, посвященных этой теме. Однако до настоящего времени не выработана единая тактика в отношении этого заболевания, многие вопросы не изучены [1-5].

В эмбриональном периоде развития, тиреоидные гормоны обеспечивают процессы нейрогенеза, миграции нейроцитов, дифференцировку улитки, т.е. формируется слух и те церебральные структуры, которые отвечают за моторные функции человека. Известно, что во внутриутробном и раннем неонатальном периоде тиреоидные гормоны стимулируют пролиферацию, дифференцировку, миграцию нейронов и глиальных клеток, повышают синтез нейротрофинов и влияют на экспрессию их рецепторов, изменяют метаболизм и скорость кругооборота различных нейромедиаторов. Менее выраженный дефицит гормонов в этот период приводит к развитию более легких психомоторных нарушений, тугоухости и дизартрии (неврологический субкретинизм). Но даже легкий дефицит тиреоидных гормонов, не вызывая серьезных ментальных нарушений все же может помешать реализации генетического уровня интеллектуальных возможностей ребенка.

Йод является важнейшим компонентом тиреоидных гормонов щитовидной железы, трийодтиронина - Т3 и тироксина - Т4. Щитовидная железа плода до 10-12 недели гестации не накапливает йод, синтез и секреция собственных гормонов под контролем фетального тиреотропного гормона (ТТГ) инициируется около 20-й недели беременности. Таким образом, плод зависит от материнского тироксина, который поступает через плаценту в небольших количествах для поддержания нормальной функции щитовидной железы плода, что особенно важно на ранних стадиях гестации. Около 30% Т4 в пуповинной крови новорожденного при рождении имеет материнское происхождение. Трийодтиронин является активным гормоном щитовидной железы, и приблизительно 80% Т3 образуется путем дейодирования Т4 в печени, мышцах и других тканях. Связывание Т3 с тиреоидными рецепторами в различных периферических тканях является важным для регуляции обмена веществ в организме. Как трийодтиронин, так и тироксин в организме практически полностью связаны с белками плазмы крови, в первую очередь с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ), и в меньших количествах, с альбумином и транстиретином (только Т4). С началом беременности рост уровня материнского эстрадиола приводит к увеличению гликозилирования ТСГ в печени, что, в свою очередь, угнетает его перифе-

рический метаболизм. Результатом таких девиаций является 1,5-2-кратное устойчивое повышение уровня ТСГ по сравнению с эутиреозом у небеременных женщин, что создает потребность в интенсификации синтеза Т3 и Т4 во время беременности. Другими причинами увеличения потребности в материнских гормонах щитовидной железы во время беременности, являются интенсивная деградация Т4 и Т3 в плаценте, хорионе и амнионе с образованием неактивного йодтиронина; увеличение объема распределения Т4 в связи с возрастанием объема плазмы во время беременности; поступление Т4 от матери к плоду через плаценту; а также, повышение уровня сывороточного хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) во время беременности. Сывороточный ХгЧ является гликопротеином, продуцируемым, прежде всего, плацентой, с пиком концентрации в конце первого триместра беременности. Одной из особенностей ХГЧ является его гомологичное с ТТГ строение, что позволяет ему связываться с рецепторами к ТТГ и оказывать стимулирующее действие, результатом чего является интенсификация секреции Т4 и Т3 и частичное подавление синтеза ТТГ. На сегодняшний день, рекомендации относительно целевого диапазона концентрации ТТГ для каждого триместра беременности соответствуют следующим параметрам: 0,1 - 2,5 мМе/л - первый триместр, 0,2 - 0,3 мМе/л - второй триместр и 0,3 - 3,0 мМе/л - третий триместр, Т4 общий: 7,33 – 14,8 мкг/дл – первый триместр, 7,93 – 16,1 мкг/дл – второй триместр, 6,95 – 15,7 мкг/дл – третий триместр, Т4 свободный: 0,7 – 2,0 мкг/дл – первый триместр, 0,5 – 1,6 мкг/дл – второй триместр, 0,5 – 1,6 мкг/дл – третий триместр, Т3 общий: 1,3 – 2,7 нмоль/л, Т3 свободный: 100 – 209 пмоль/л – первый триместр, 117 – 236 пмоль/л – второй триместр, 117 – 236 пмоль/л – третий триместр.

Цель данной работы: выявление особенностей течения беременности у женщин, страдающих гипотиреозом, анализ путей коррекции выявленных нарушений, изучение влияния гипотиреоза на эмбриональное развитие плода.

В ходе работы было использовано 68 медицинских карт беременных, рожениц и родильниц, получающих медицинскую помощь в стационарных условиях, а также 68 обменных карт, отражающих амбулаторный этап ведения беременности. Все женщины были родоразрешены в перинатальном центре Самарской областной клинической больницы им. В.Д. Середавина. Изучение гестационного периода у пациенток с сочетанной эндокринной патологией одновременно с гипотиреозом проводилось на основе данных кардиотокографии, ультразвукового исследования плодово-плацентарного комплекса, допплерометрии, антропометрических данных, биохимического и общего анализа крови, общего анализа мочи, гемостазиограммы. Все женщины на догоспитальном этапе, либо в течение госпитализации в перинатальном центре Самарской областной клинической больницы им. В.Д. Середавина проходили осмотр у эндокринолога. Затрагивая патогенез развития гипотиреоза, следует отметить, что снижение функции щитовидной железы связано с гемитиреоидэктомией, послеоперационным гипотиреозом – у 20 пациен-

ток, с хроническим аутоиммунным тиреоидитом (ХАИТ) – у 26 пациенток, с субклиническим гипотиреозом, обусловленным гестационным периодом – у 22 пациенток. Среди обследуемых женщин наиболее высокого репродуктивного потенциала пациентки с гипотиреозом встречаются с примерно одинаковой частотой: в возрасте 20-30 лет – 25 (37%), 30-40 лет - 24 (35%), реже до 20 лет – 7 (10%), старше 40 лет – 12 (16%). При изучении акушерского анамнеза мы также определили: первобеременные – 20 (29%), повторнобеременные – 48 (71%); по паритету: первородящие – 25 (37%), повторнородящие – 43 (63%), среди них более двух родов – 11 (16%); по наличию у них отягощенного акушерского анамнеза: овариальное бесплодие – 9 (13%), невынашивание – 3 (5%) ; наличию ЭКО – 9 (13%). Следует отметить, что все дети родились доношенными в сроке 37/0 до 41/6 недели беременности, у 80% масса была более 3.800 кг, выявлена тенденция к макросомии плода.

В результате нашей работы мы выявили чрезмерный прирост веса беременных женщин, страдающих гипотиреозом (75%), повышение у них систолического и диастолического артериального давления (60%), гестационную анемию беременных легкой степени (70%), отеки (50%), лимфоцитопению (85%), макросомию плода (65%), увеличение риска нарастания степени инсулинорезистентности – и, как следствие, развитие гестационного сахарного диабета (55%), а также увеличение частоты преждевременных родов и операций кесарева сечения (70%) – мультифакториальная проблема. К основным причинам возникновения данных нарушений относятся метаболические расстройства, происходящие в организме беременной женщины, снижение обменных процессов даже на ранней стадии развития гипотиреоза.

В ходе нашего исследования мы изучили особенности течения беременности у женщин, страдающих гипотиреозом, а также влияние беременности на эмбриональное развитие плода. Следует отметить распространенность субклинического гипотиреоза, возникающего во время беременности, который может сочетаться с увеличением риска преждевременных родов. Более склонны к возникновению данного заболевания женщины, имеющие в семейном анамнезе аутоиммунные заболевания. Современная лабораторная диагностика субклинического гипотиреоза основана на определении уровня тиреотропного гормона и свободного тироксина. Для субклинического гипотиреоза характерно повышение уровня тиреотропного гормона при нормальном уровне тиреоидных гормонов. Наличие субклинического гипотиреоза, как и манифестного, может иметь необратимые последствия для развития плода и функций его мозга. При проведении медикаментозной коррекции недостаточности функции щитовидной железы во время беременности определяется более высокая оценка новорожденных по шкале Апгар при рождении.

После коррекции гипотиреоза левотироксином у женщин при последующем УЗИ плода и плаценты патологии состояния плодов и плаценты не было выявлено. Это свидетельствует о

своевременном начале терапии гипотиреоза и обратимом характере процессов, что подтверждается благоприятными перинатальными исходами - все дети были здоровы при рождении.

Однако было доказано, что тиреоидная дисфункция, даже на фоне медикаментозно-заместительной терапии, может приводить к увеличению веса женщин репродуктивного возраста, что способствует в дальнейшем возникновению у них различных осложнений беременности, увеличению риска развития гестационного сахарного диабета, а также макросомии плода в связи с снижением обменных процессов в организме матери. Таким образом, существует зависимость между концентрациями ТТГ, Т3, Т4св и уровнем ИМТ и гестационной прибавкой веса как матери, так и плода. Понимание роли эндокринных факторов в патогенезе патологической прибавки массы тела при беременности создает реальную возможность повлиять на вес женщины и ассоциированные с ним перинатальные исходы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тезиков Ю.В., Липатов И.С., Рябова С.А., и др. Перинатальная хрономедицина: биоритмостаз плода при неосложненной беременности и плацентарной недостаточности. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014; 16 (5-4): 1467-1470.
2. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Линева О.И., и др. Возможности немедикаментозной и медикаментозной терапии плацентарной недостаточности. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2019; 18 (1): 53-62. DOI: 10.20953/1726-1678-2019-1-53-62
3. Тезиков Ю.В., Липатов И.С., Фролова Н.А., и др. Информативность предикторов больших акушерских синдромов у беременных с эмбриоплацентарной дисфункцией. Аспирантский вестник Поволжья. 2015; 5-6: 48-55.
4. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Протасов А.Д., и др. Особенности течения беременности ранних сроков и профилактика гестационных и перинатальных осложнений у женщин с метаболическим синдромом. Ожирение и метаболизм. 2017; 14 (4): 57-66. DOI: 10.14341/omet2017457-66
5. Тезиков Ю.В., Липатов И.С. Преэклампсия: диагностика, лечение, профилактика: Учебное пособие. Самара: ООО «Офорт»; 2014. 90 с.

ДИНАМИКА СОСТОЯНИЯ МИКРОНУТРИЕНТНОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ (9 ЛЕТ НАБЛЮДЕНИЯ)

О.Е. Рябыш[1], А.В. Мирошникова[1], В.Д. Олейникова[1], В.И. Склярова[1]

Научные руководители:

В.А. Дударева[1], ассистент кафедры здорового образа жизни и диетологии Ростовского Государственного медицинского университета

Т.В. Хвалина[2], заведующая отделением патологии беременности ГБУ РО «Перинатальный центр», врач акушер-гинеколог высшей категории

Е.Э. Челохова[3], заведующая женской консультацией ГБУ Ростовской области «Городская больница № 8», врач- гинеколог высшей категории

[1]ФГБОУ ВО «Ростовский Государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, РФ

[2]ГБУ РО «Перинатальный центр», РФ

[3]ГБУ Ростовской области «Городская больница № 8», РФ

Введение

Беременность женщины - это состояние, характеризующееся интенсивным ростом и развитием плода, что способствует повышению потребности женщины в энергии, витаминах и минералах. Сбалансированное питание с достаточным потреблением микронутриентов (витаминов и минералов) за счет использования добавок или обогащенных продуктов питания и надлежащий набор веса во время беременности связаны с улучшение материнских и перинатальных исходов, включая профилактику пороков развития. [1,2] При планировании рациона питания женщины должны быть учтены как ее физиологические особенности, так и совокупность воздействующих внешних факторов, включая географические условия, степень физической активности и наличие сопутствующей патологии. По данным многочисленных исследований, несбалансированное питание женщины в период беременности и лактации сопоставимо с влиянием генетических факторов и активных химических или инфекционных воздействий. [3]

Согласно теории метаболического программирования, важнейшим программирующим фактором является питание матери. Макро- и микронутриенты, поступающие с пищей, обеспечивают процессы пролиферации и дифференцировки клеток в ключевые периоды формирования органов и становления их функциональной активности, тем самым оказывают существенное влияние на здоровье будущего ребенка, на его вкусовые предпочтения, характер питания на протяжении его жизни. Во всем мире 20-30% беременных женщин страдают от

дефицита витаминов и минералов [1], в России одновременный дефицит двух витаминов выявляется у 20-26%, а трех – у каждой десятой беременной по содержанию в крови. [4] Как известно, нарушение соотношения микро- и макронутриентов приводит к изменению внутриутробной среды, повышению риска нарушения структуры и функционирования внутренних органов и таким образом является предиктором развития хронических неинфекционных заболеваний плода. Важнейшими микроэлементами и минералами, необходимыми для физиологического течения беременности и формирования плода, являются железо, фолиевая кислота, йод, кальций, магний, медь, марганец, цинк. Достаточное потребление кальция является залогом развития костной системы у ребенка. Йод обеспечивает нормальный белковый, жировой, углеводный и водно-электролитный обмен. Железо необходимо для образования гемоглобина и миоглобина. А недостаток меди, в свою очередь, вызывает уменьшение всасывания и использования железа, что приводит к развитию анемии, нарушению остеогенеза. Магний играет ключевую роль в обеспечении нормального функционирования нервной и мышечной систем. Недостаток фолиевой кислоты приводит к развитию анемии плода, увеличению частоты гестозов беременных, преждевременной отслойке плаценты.

На основе вышеуказанных данных возникает потребность изучения фактического питания беременных женщин Ростовской области в динамике с целью не только получения сведений о том, как они фактически питаются, но и предпринятия попыток по коррекции их рациона.

Цель. Изучение динамики фактического питания беременных женщин Ростова-на-Дону за 9 лет и выявление обеспеченности их рациона витаминами и минералами.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие в 2014 году 49 женщин [4] и в 2023 году также 49 женщин в возрасте от 18 до 39 лет со сроком гестации до 20 нед беременности, состоящих на учете в женских консультациях Ростова-на-Дону. Структуру фактического питания определяли с помощью Программы анализа состояния питания человека, версия 1.2.4, зарегистрированной Российским агентством по патентам и товарным знакам 09.02.2004 № 2 004 610 397 ФГБУ «НИИ питания» РАМН.

Результаты. Анализ фактического питания в отношении витаминов и минералов за 2014/2023 годы показал избыточное потребление натрия (3,93/4,52 г/сут при норме 1,3 г/сут), калия (4046,51/4777,68 мг/сут при норме 2500 мг/сут), фосфора (1526/1735 мг/сут при норме 700-900 мг/сут), витамина А (1957,7/2172,77 мкг ток.экв./сут при норме 800-900 мкг ток.экв./сут) и витамина С (303,29/359,48 мг/сут при норме 110 мг/сут), магния (390,07/482,62 мг/сут при норме 420-450 мг/сут) при недостаточном потреблении кальция (1066,3/1161,7 мг/сут, при норме 1000-1300 мг/сут), железа (20,06/25,02 мг/сут при норме 18-33 мг/сут),

витамина B1 (1,3/1,6 мг/сут при норме 1,5-1,7 мг/сут), B2 (1,7/1,82 мг/сут при норме 1,8-2 мг/сут), PP (16,5/18,71 мг/сут при норме 20 мг ниац. экв/сут)

Выводы. Динамика потребления микронутриентов беременными остается резко отрицательной. Полигиповитаминоз и дефицит содержания кальция, магния и железа приводит к высоким перинатальным потерям, повышенноми риску рождения ребенка с нарушениями функции сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной и пищеварительной систем. Таким образом, требуется незамедлительная коррекция рационов беременных, проведение образовательных мероприятий для женщин и для специалистов, осуществляющих динамическое наблюдение за ними.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Vito M, Alameddine S, Capannolo G, Mappa I, Gualtieri P, Di Renzo L, De Lorenzo A, D' Antonio F, Rizzo G. Systematic Review and Critical Evaluation of Quality of Clinical Practice Guidelines on Nutrition in Pregnancy. Healthcare (Basel). 2022 Dec 9;10(12):2490. doi: 10.3390/healthcare10122490. PMID: 36554014; PMCID: PMC9778102.
2. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы / В. М. Коденцова, О. А. Вржесинская, Д. В. Рисник [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 4. – С. 113-124. – EDN ZFTKLT.
3. Symonds ME, Pope M, Sharkey D, Budge H. Adipose tissue and fetal programming. Diabetologia 2012;55(6):1597–1606.
4. Нарушение баланса витаминов и микроэлементов во время беременности по данным фактического питания / И. Г. Дядикова, В. А. Дударева, Е. А. Рябкина [и др.] // Вопросы питания. – 2014. – Т. 83, № S3. – С. 92. – EDN XCEVJZ.

ПРОВЕДЕНИЕ РАДИКАЛЬНОЙ ТРАХЕЛЭКТОМИИ С ТРАНСПОЗИЦИЕЙ МАТКИ В СОСТАВЕ КОМБИНИРОВАННОГО ОРГАНОСОХРАНЯЮЩЕГО ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ ШЕЙКИ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

А.А. Черняков, Ю.М. Трущук, О.С. Диль

Научный руководитель: А.Л. Чернышова, д.м.н., профессор РАН

[1]Научно-исследовательский институт онкологии Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук.

Актуальность. Рак шейки матки остается одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей у женщин. Традиционное противоопухолевое лечение при начальных стадиях приводит к необратимой утрате фертильности, что значительно снижает качество жизни у женщин репродуктивного возраста. Нами представлен опыт проведения радикальной трахелэктомии (РТ) с транспозицией матки в составе комбинированного органосохраняющего лечения больных раком шейки матки IB3-II стадий. Предлагаемая комбинация лечебных мероприятий позволяет обеспечить функциональную сохранность матки и придатков у пациенток с инвазивными формами рака шейки матки нуждающихся в проведении комбинированного лечения, а также расширить показания для проведения органосохраняющего лечения.

Цель исследования. внедрение методики комбинированного органосохраняющего лечения инвазивного рака шейки матки IB3-II стадии у больных репродуктивного возраста.

Материалы и методы. В исследование включено 13 пациенток с IB3 – II стадией рака шейки матки, находившихся на стационарном лечении в НИИ онкологии в 2020-2023 годах. Больным было проведено комбинированное органосохраняющее лечение.

Средний возраст пациенток составил 29 ± 3,8 лет.

Показания и условия выполнения операции

1. Плоскоклеточный, аденогенный рак шейки матки;
2. Стадии T1B3-2No-1Mo, T2A-BNo-1Mo;
3. Репродуктивный возраст (до 45 лет);
4. Наличие овариального резерва;
5. Сохранение репродуктивных намерений;
6. Возможность динамического контроля.

Для визуализации «сторожевых» лимфатических узлов радиоактивный лимфотропный наноколлоид «Аллотех», вводился за сутки до операции во время процедуры в дозе 80 MBq. Инъекции РФП выполнялись в 4-х точках (в дозе 20 MBq в каждой инъекции) в подслизитое пространство. Сцинтиграфическое исследование на гамма-камере (E.CAM 180, Siemens) выполнялось через 20 минут и 3 часа после введения радиоиндикатора в режиме однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ) области таза. Поиск сторожевых лимфатических узлов интраоперационно осуществлялся при помощи гамма-зонда Gamma Finder II® (США) при трансабдоминальном доступе и портативным лапароскопическим гамма–зондом RadPointer-gamma (Швейцария) при лапароскопическом доступе , путем тщательного измерения уровня гамма-излучения во всех лимфатических коллекторах. Зарегистрированный уровень гамма-излучения отображался на дисплее числовыми значениями счетчика в cps (counts per second, отсчеты в секунду). (патент РФ 2535614).

Выполнялось оперативное вмешательство, которое полностью соответствовало радикальной трахелэктомии, т.е. удалялась шейка матки с околошеечной клетчаткой, влагалищной манжетой, тазовыми лимфатическими узлами. Производилась морфологическая оценка состояния лимфатических узлов и линии резекции шейки матки (проксимальной и дистальной).

Транспозиция маточно-овариального комплекса выполнялась в параумбиликальную область. Артерии и вены воронко-тазовых связок выделялись с обеих сторон максимально «высоко», до уровня их отхождения от магистральных коллекторов поясничной области (аорта и нижняя полая вена, почечные сосуды). За счет данного технического приема достигается мобильность «маточно-овариального» комплекса, позволяющая выполнить его «временную» (на период проведения послеоперационной лучевой терапии) транспозицию в область мезогастрия в целях исключения лучевого повреждения.

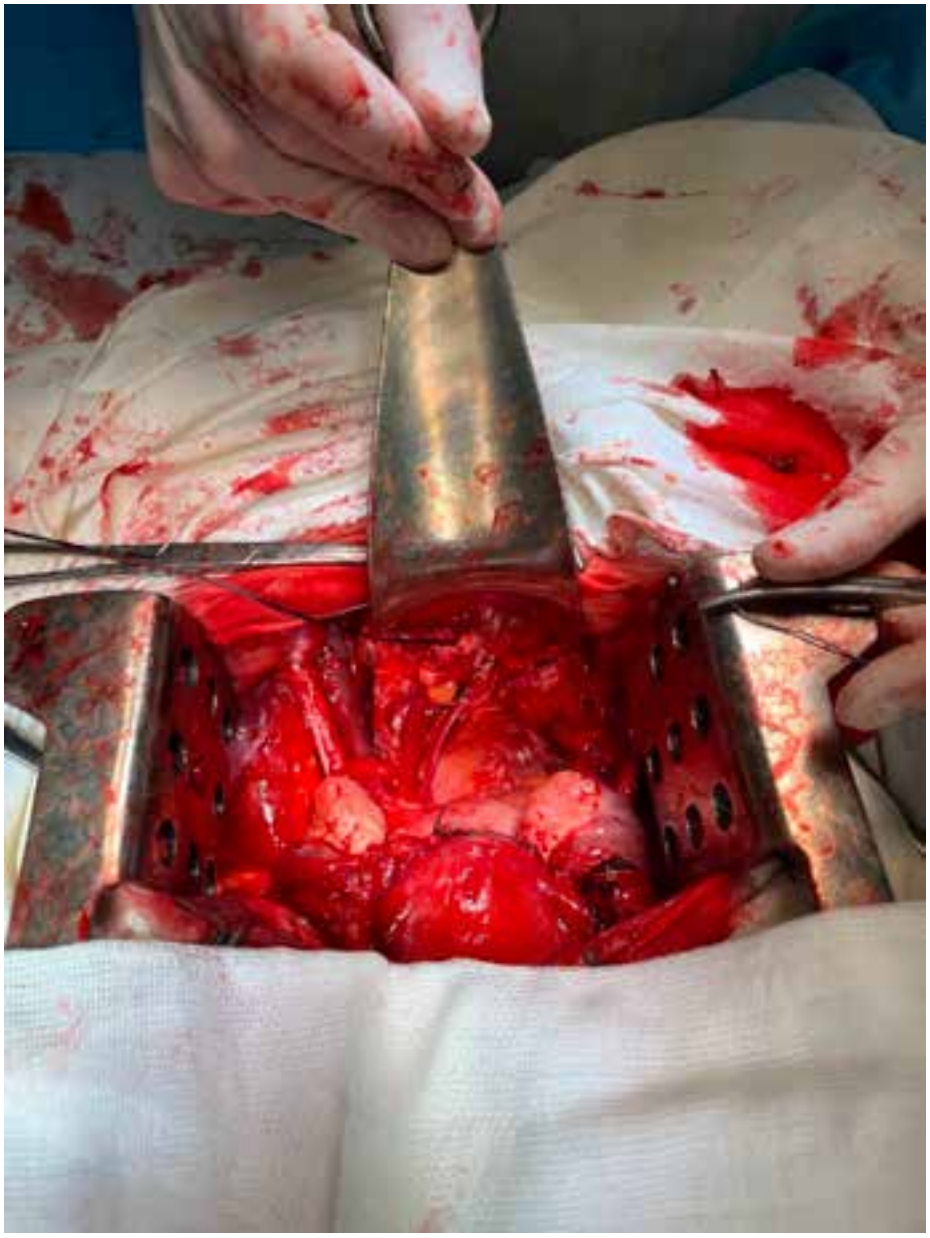


Рис.1. Выполнена радикальная трахелэктомия, культя влагалища ушита, маточно-овариальный комплекс перед транспозицией в параумбиликальную область.

Следующим этапом проводилась сочетанная лучевая терапия по радикальной программе.

На следующем этапе проводилось реконструктивно-восстановительное лечение, которое включает в себя ретранспозиция матки в полость малого таза, формирование маточно-влагалищного анастомоза.

Рис.2. Маточно-овариальный комплекс перед проведением ретранспозиции.

У всех больных РШМ во время операции радикальной трахелэктомии, непосредственно после ушивания анастамоза непрерывной нитью, укреплялась зона маточно-влагалищного анастомоза с помощью имплантата из никелида титана, размеры данного армирующего имлантата: (марка ТН-1): ширина 4-5 см, длина 7-8 см, диаметр нити 0,1-0,08 мм, размеры ячейки сетки 3-5 мм. Моделирование имплантата по месту установки в границах от нижнего сегмента матки до верхней трети влагалища, фиксацию проводили четырьмя отдельными швами по периметру (патент РФ 2521848).

Всем больным проводилась оценка менструальной функции, гормонального статуса (гормонов стероидного ряда) и показателя репродуктивного потенциала до и после оперативного лечения. Оценка менструальной и гормональной функции проводилась через 1, 3 и 6 месяцев после

хирургического лечения. Гормональные исследования проводились методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа с определением уровня лютеинезирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина (ПРЛ), эстрадиола (Е2), тестостерона, прогестерона, сексстероидсвязывающего глобулина в сыворотке крови. Концентрация гормонов определялась по общепринятой методике с использованием коммерческих наборов фирмы «CIS Bio Int.»(Франция) и «Immunoteh»(Чехия). Подсчет радиоактивности полученных проб осуществлялся на Гамма счетчике «Clini Gamma»(LKB, Швеция). Для количественной оценки результатов твердофазного иммуноферментного анализа использовались данные калибровочной кривой, построенной с помощью ИФА-анализатора «Antos» (Австрия).

В послеоперационном периоде оценивалась менструальная, гормональная функция, определялся показатель репродуктивного потенциала. Проводилось анкетирование пациенток с анализом репродуктивного поведения пациенток после оперативного вмешательства.

Через 9-12 месяцев пациенткам проводилась консультация репродуктолога.

Практическая значимость. Анализ проведенных исследований позволил сформулировать практические рекомендации для проведения комбинированного органосохраняющего лечения по радикальной программе у больных инвазивным раком шейки матки:

- биопсия сторожевых лимфатических узлов позволяет произвести адекватную стратификацию опухолевого процесса: выявление раковых клеток в лимфоузлах является важным критерием стадийности процесса и влияет на дальнейшую тактику лечения;

- Внедрение методики транспозиции маточно-овариального комплекса позволяет обеспечить функциональную сохранность матки и придатков у пациенток с инвазивными формами рака шейки матки нуждающихся в проведении комбинированного лечения по радикальной программе, т.е. выполнении расширенной операции с последующим лучевым или химиолучевым воздействием на область малого таза. При этом полученные данные позволяют сделать предварительные выводы о полноценном функциональном сохранении менструальной и гормональной функций.
- Применение имплантата из никелида титана с целью формирования запирательного аппарата шейки матки и укрепления зоны анастомоза улучшает качество жизни и результаты вынашивания беременности, обеспечивая необходимый «запирательный» эффект и профилактику стеноза внутреннего зева;

Описание статистического анализа данных. Онкологические результаты настоящего исследования показали удовлетворительные показатели: медиана наблюдения у 13 больных с инвазивным раком шейки матки составила 24 месяца, рецидивов не выявлено. Общая выживаемость 100%. Это дает основание для подтверждения целесообразности и высокой эффективности органосохраняющего лечения в объеме радикальной трахелэктомии, транспозиции маточно-овариального комплекса у данной категории больных.

Применение концепции сторожевых лимфатических узлов при данном оперативном вмешательстве, на наш взгляд, интересно было с двух позиций: во-первых, были изучены анатомо-топографические особенности лимфооттока при РШМ, во-вторых, улучшить интраоперационную диагностику микрометастазов в лимфатические узлы.

Применение имплантата с памятью формы из никелида титана показало достаточно хорошую переносимость и отсутствие пери- и послеоперационных осложнений. Полная эпителизация зоны маточно-влагалищного анастомоза, как правило, наступала в сроке 8-12 недель после операции.

Анализ результатов исследования менструальной и гормональной функций показал, что продолжительность менструального цикла после хирургического лечения в объеме РТ в среднем составила 27 дней и достоверно не отличалась от показателей перед операцией.

Анализ анамнестических данных гинекологического паритета показал, что 9ф больных (80%) не имели детей до начала лечения, больше половины больных имели в анамнезе аборты и самопроизвольные выкидыши, в 1 случае имелась внематочная беременность. Этим можно объяснить достаточно высокую мотивацию к сохранению фертильности, даже с учетом наличия онкологического заболевания у данной категории больных. В ходе проведенного анкетирования выяснилось, что лишь незначительная часть пациенток изменили свои репродуктивные желания: 20% пациенток передумали иметь детей в силу различных причин, как социальных, так и материальных.

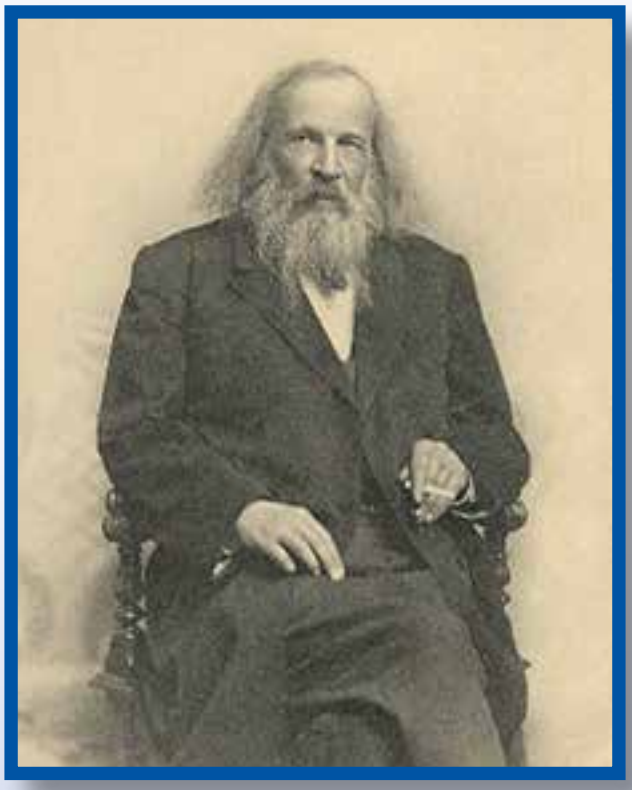
Все женщины сохранили репродуктивную функцию.

Заключение. Удовлетворительные показатели онкологических результатов, биологическая инертность имплантата из никелида титана, отсутствие достоверных различий в менструальной и гормональной функциях до и после проведения комбинированного органосохраняющего лечения позволяет сделать выводы о целесообразности и высокой эффективности данного метода лечения рака шейки матки у больных репродуктивного возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nezhat C., Roman R.A., Rambhatla A., Nezhat F. Reproductive and oncologic outcomes after fertility-sparing surgery for early stage cervical cancer: a systematic review. Fertil Steril. 2020 Apr; 113(4):685-703. doi: 10.1016/j. fertnstert.2020.02.003.PMID: 32228873.
2. Антипов В.А., Новикова Е.Г., Балахонцева О.С. Особенности функциональной и анатомической реабилитации после радикальной абдоминальной трахелэктомии. Проблемы репродукции. 2010; 1: 103-107. [Antipov V.A., Novikova E.G., Balakhontseva O.S. Features of functional and anatomical rehabilitation after radical abdominal trachelectomy. Problems of reproduction. 2010; 1: 103-107 (In Russ.)].
3. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Красильников С.Э. Органосохраняющее лечение при инвазивном раке шейки матки. Сибирский онкологический журнал. 2011; 2:72-78. [Chernyshova A. L., Kolomiets L. A., Krasilnikov S. E. Organ-preserving treatment in invasive cervical cancer. Siberian Oncological Journal. 2011; 2:72- 78 (In Russ.)].
4. Lanowska M. et al. Radical vaginal trachelectomy after laparoscopic staging and neoadjuvant chemotherapy in women with early-stage cervical cancer over 2 cm: oncologic, fertility, and neonatal outcome in a series of 20 patients. Int J Gynecol Cancer. 2014; 24(3): 586-93.
5. Новикова Е.Г, Антипов В.А., Балахонцева О.С. Первый опыт применения вспомогательных репродуктивных технологий после радикальной абдоминальной трахелэктомии. Российский онкологический журнал. 2012; 1: 40 [Novikova E.G., Antipov V.A., Balakhontseva O.S. The first experience of using assisted reproductive technologies after radical abdominal trachelectomy. Russian Oncological Journal. 2012; 1: 40 (In Russ.)].
6. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Гюнтер В.Э., Марченко Е.С. Новые хирургические аспекты органосохраняющего лечения у больных инвазивным раком шейки матки после радикальной трахелэктомии. Вопросы онкологии. 2017; 63(5):743-747 [Chernyshova A.L., Kolomiets L.A., Gunter V.E., Marchenko E.S. New surgical aspects of organ-preserving treatment in patients with invasive cervical cancer after radical trachelectomy. Questions of oncology. 2017; 63(5):743-747 (In Russ.)].
7. Ribeiro R. et al. Uterine transposition technique: update and review Minerva Ginecol. 2019 Feb;71(1):62-71. doi: 10.23736/S0026-4784.18.04360-5.
8. Willows K., Lennox G., Covens A. Fertility-sparing management in cervical cancer: balancing oncologic outcomes with reproductive success. Gynecol Oncol Res Pract. 2016 Oct 21;3:9. doi: 10.1186/s40661-016-0030-9.

БИООРГАНИЧЕСКАЯ, БИОНЕОРГАНИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ



Менделеев Дмитрий Иванович (1834–1907)

«Вся гордость учителя в учениках, в росте посеянных им семян»

НАНОРАЗМЕРНЫЕ МР-КОНТРАСТНЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ИОНОВ МАРГАНЦА И ГЕКСАРЕНИЕВЫХ КЛАСТЕРОВ

Б.С. Ахмадеев [1,2*], А.Д. Волошина [1], К.А. Брылев [3], А.Р. Мустафина [1]

[1]Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия

[2]Казанский (Приволжский) Федеральный Университет,

Ул. Кремлёвская, дом 18, г. Казань, 420008, Россия

[3]Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Проспект Академика Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090

**e-mail:* bulat_ahmadeev@mail.ru

Аннотация

В работе представлено получение наночастиц на основе ионов марганца и гетеролигандных кластеров состава $[Re_6Se_8(CN)_2(OH)_4]^{4-}$ (Q=Se, S), охарактеризованы их форма, размер, состав. Полученные наночастицы $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ проявляли более высокую релаксивность по сравнению с коммерчески доступными КА (5.1 и 5.4 $мМ^{-1}с^{-1}$). Показано, что наночастицы $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ не проявляют цитотоксической, геммагглютинирущей и гемолитической активности.

Введение

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является широко используемым диагностическим методом [1–3]. Для эффективного контрастирования используют парамагнитные контрастные агенты (КА), которые представлены молекулярными комплексами Gd^{3+}. В силу их нефрогенности [4] и низкой эффективности [5], наблюдается тенденция развития Mn-содержащих контрастных агентов, в том числе и наноразмерных, поскольку это позволяет существенно увеличить релаксивность, и так же получить бимодальные КА [6,7] и тераностики [8, 9].

Ранее было показано, что гексарениевые кластеры $[Re_6Q_8(CN)_6]^{4-}$ ($Q=S^{2-}$, Se^{2-}, Te^{2-}) представляют эффективную платформу для создания КА на основе Mn^{2+} [10]. Обнаружено, что наночастицы на основе кластера $[Re_6Se_8(CN)_6]^{4-}$ проявляют высокую релаксивность и низкую токсичность [10]. Использование гетеролигандого кластера $[Re_6S_8(CN)_2(OH)_4]^{4-}$ позволило получить наночастицы пластинчатой формы, обеспечивающей более высокие значения релаксивностей [11]. Их уникальность заключалась в способности к pH-индуцированному высвобождению ионов Mn^{2+} за счет протонирования гидроксильных групп кластера [11], что создает предпосылки селективного контрастирования. В то же время, на примере $[Re_6Q_8(CN)_6]^{4-}$ было показано, что варьированием Q от S^{2-} к Se^{2-} и Te^{2-}

можно управлять релаксивностью их комплексов с ионами Mn^{2+} за счет увеличения степени кристалличности в нанокристаллах [10]. В рамках публикации [11] не была решена задача синтеза аналогичных марганец содержащих наночастиц на основе кластера $[Re_6S_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$.

В связи с этим было решено расширить ряд кластерных лигандов за счет включения кластеров $[Re_6S_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$ и $[Re_6Se_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$ для синтеза парамагнитных наночастиц. В рамках данной работы синтезированы новые парамагнитные наночастицы на основе указанных кластеров, охарактеризованы их форма, размер, состав. Определены параметры r_1 и r_2 синтезированных наночастиц в буферных средах с различным pH, и выявлена pH-зависимость данных параметров, проведена оценка взаимодействия наночастиц с эритроцитами с помощью тестов на гемагглютинацию и гемолиз.

Экспериментальная часть

Методы

Измерения динамического рассеяния света (ДРС) проводили с помощью анализатора частиц Malvern Mastersize 2000 с He-Ne-лазером (630 нм). УФ-вид спектры были получены на спектрофотометре Specord 50 plus. Изображения ПЭМ были получены с использованием Hitachi HT7700. Измерения времен продольной (T_1) и поперечной (T_2) релаксации проводились с помощью импульсного ЯМР-релаксометра Bruker Minispec MQ-20 с рабочей частотой 20 МГц (0.47 Тл).

Эксперименты по цитотоксичности проводили флуоресцентным анализом с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging (GE Helthcare Life Science, Швеция) с приложением Cell Viability BioApp. Процент жизнеспособности клеток определяли с использованием флуоресценции интактных клеток в качестве контроля (100%). При определении гемагглютинации использовали 2% эритроцитарную массу крови человека (IV группа). Смешивали 100 мкл коллоидных растворов различной концентрации с таким же объемом раствора эритроцитарной массы (1:1) и вносили в лунку в 96-луночном U-планшете для микротитрования. Образцы выдерживали в течение 1 часа при 37°C, а затем наблюдали гемагглютинацию невооруженным глазом. Фотографии образцов были получены с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ci-S (Nikon, Япония). Гемолитическую активность оценивали путем сравнения оптической плотности раствора, содержащего тестируемое соединение, с оптической плотностью крови при 100% гемолизе. В качестве объекта исследования были использованы эритроциты человека. Эритроциты с ЭДТА трижды промывали физиологическим раствором (0,9% NaCl), центрифугировали 10 мин при 800 об/мин и ресуспендировали в физиологическом растворе (0,9% NaCl) до

концентрации 10%. Тестируемые концентрации (0,1–100 мкМ) готовили на физиологическом растворе (0,9% NaCl) (с добавкой 5% ДМСО). Соединения в соответствующем разведении (450 мкл) добавляли к 50 мкл 10% суспензии эритроцитов. Образцы инкубировали в течение 1 часа при 37°C и центрифугировали 10 минут при 2000 об/мин. Высвобождение гемоглобина контролировали путем измерения оптической плотности супернатанта на микропланшет-ридере Invitrologic (Россия) при 540 нм. Контрольный образец, соответствующий нулевому гемолизу (холостой эксперимент), готовили путем добавления 50 мкл 10%-ной суспензии эритроцитов к 450 мкл физиологического раствора (0,9% NaCl). Контрольный образец, соответствующий 100% гемолизу, готовили добавлением 50 мкл 10% суспензии эритроцитов к 450 мкл дистиллированной воды.

Синтез

Смешали водный раствор $MnCl_2$ (0.5 мл, 30 ммоль/л) и [$\{Re_6Q_8(CN)_4(OH)_2$], $Q=S^{2-}$, Se^{2-} (4.5 мл, 1.1 ммоль/л), выдержали полученный раствор на магнитной мешалки при температуре 50°C, 1250 об/мин в течение 1 часа, затем на протяжении 4 часов при 70°C. Затем частицы выдерживали при перемешивании при комнатной температуре в течении суток ($Q=Se^{2-}$) и 2 суток ($Q=S^{2-}$). Полученные коллоидны осаждали на центрифуге.

Обсуждение результатов

Для формирования наночастиц на основе комплексов ионов Mn^{2+} с кластерами $[Re_6S_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$ необходимо продолжительное перемешивание и нагревание в течение 48 часов [11]. В свою очередь, в растворах кластера с селенидным ядром $[Re_6Se_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$ в присутствие ионов Mn^{2+} образование коллоидов происходило уже спустя четыре часа.

Мольное соотношение ионов марганца и кластерных лигандов с составе наночастиц $Mn_x[Re_6Q_8(CN)_4(OH)_2]_y$ ($Q=S^{2-}$, Se^{2-}) определяли по количеству ионов оставшихся в супернатанте после отделения наночастиц в соответствии с ранее опубликованными работами [10, 12] (Рисунок 1a - 1c). Как следует из проведенного анализа наночастицы имели следующий состав $MnNa_4[Re_6S_8(CN)_4(OH)_2]_{1.5}$ и $Mn_{1.6}Na_{2.4}[Re_6Se_8(CN)_2(OH)_4]$.Здесь и далее частицы $MnNa_4[Re_6S_8(CN)_4(OH)_2]_{1.5}$ и $Mn_{1.6}Na_{2.4}[Re_6Se_8(CN)_2(OH)_4]$ для упрощения повествования будут обозначаться как $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ соответственно.

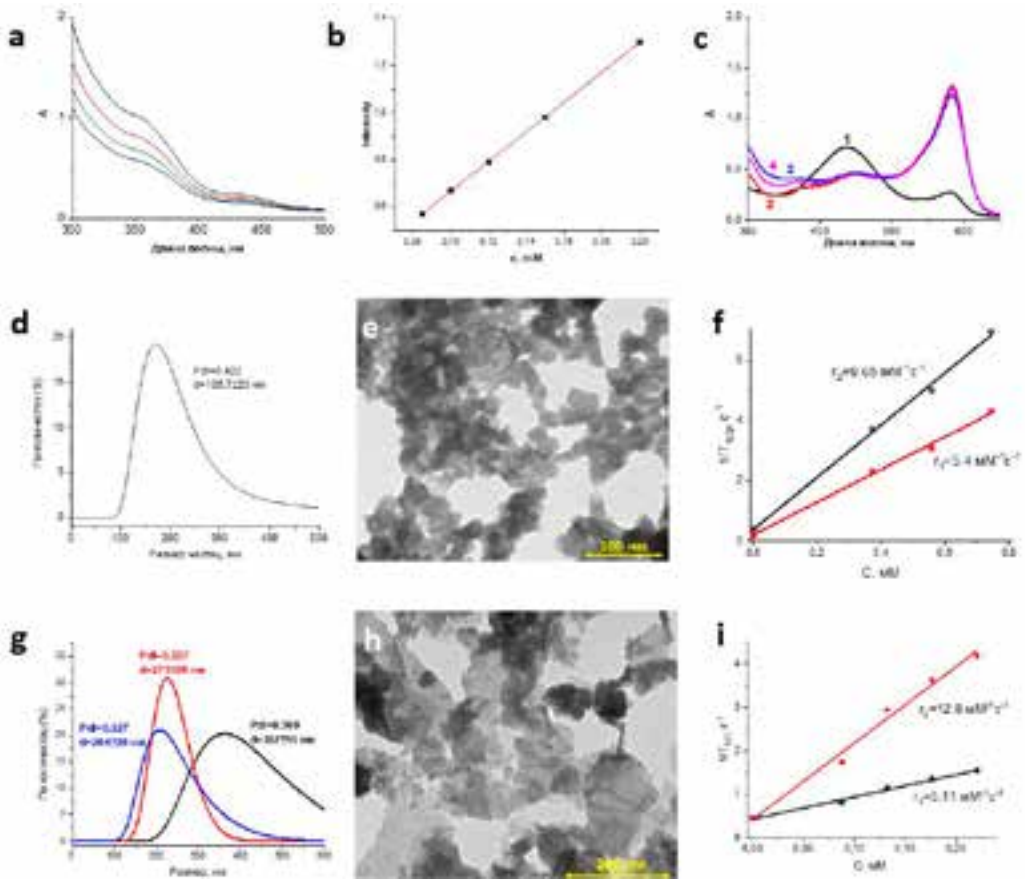


Рисунок 1. Спектры УФ-вид(a) и концентрационные зависимости(b) раствора $Re_6Se_8(CN)_4(OH)_2$. C – УФ-вид спектры раствора ксиленолового оранжевого(1), раствор ксиленолового оранжевого с 100% Mn (2), растворов ксиленолового оранжевого с надосадочными растворами, полученными после осаждения $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ (1) и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ (2). Распределение частиц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ (d) и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ (g) по размеру, полученное методом ДРС. ТЕМ-изображения высушенных наночастиц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ (e) и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ (h). Зависимости 1/T1(2) от концентрации Mn, полученные для $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ (f) и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ (i).

Размер наночастиц (НЧ) на основе селенидного кластера $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ по данным ДРС составил 200±23 нм. ПЭМ-изображения высушенных $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ выявили сферическую форму и размер высушенных твердых наночастиц на уровне 17-30 нм (Рис.2). Существенная разница между размерами нанокристаллитов в высушенном виде и в растворе является следствием их агрегации, что подтверждается высокой степенью полидисперсности (PDI=0.420). В свою очередь наночастицы $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ по данным ПЭМ имеют пластинчатую форму (Рисунок 1h). Их агрегация в водных растворах приводит к более высоким значениям размера наночастиц (рисунок 1g).

Для оценки контрастирующей способности при МР-визуализации используются параметры продольной (r_1) и поперечной (r_2) релаксации [12]. Величины r_1 и r_2 рассчитываются как скорости продольной и поперечной релаксации в пересчете на 1 мМ парамагнитных ионов за вычетом диамагнитного вклада $1/T_{диам}$, который представляет собой скорость релаксации чистой воды: $1/T_{1(2)} = r_{1(2)} \cdot C_{Mn} + 1/T_{диам}$. Для расчета данных

значений были построены зависимости скорости продольной ($1/T_1$) и поперечной ($1/T_2$) релаксации при различных концентрациях Mn(II) (рисунок 1f и 1i). Линейность данной зависимости подтверждает коллоидную стабильность обоих типов НЧц. Рассчитанные значения продольной релаксивности r_1 (рисунок 1f и 1i) для нч $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ составляют 5.1 $мМ^{-1}с^{-1}$ и 5.4 $мМ^{-1}с^{-1}$ соответственно и уступают $Mn_x[Re_6S_8(CN)_2(OH)_4]_y$ [11]. Тем не менее, данные значения выше, чем для коммерчески доступных контрастных агентов [12]. Наблюдаемое различие можно объяснить более высокой степенью агрегации коллоидов $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$, вследствие чего происходит замедление скорости обмена молекул воды в первой координационной сфере Mn^{2+}, которые находятся внутри агрегатов [12].

Наночастицы $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ обеспечивают более эффективную релаксацию по спин-спиновому механизму по сравнению с $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ (рисунок 1f и 1i), что сопровождается увеличением отношения r_2/r_1 (рис. 2). Это указывает на большую долю скалярного вклада в скорость спин-спиновой релаксации за счет увеличения количества внутрисферных молекул воды ионов марганца [12]. Учитывая соотношения r_2/r_1 вероятно, что степень вымывания ионов марганца из НЧц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ существенно выше, чем для $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$.

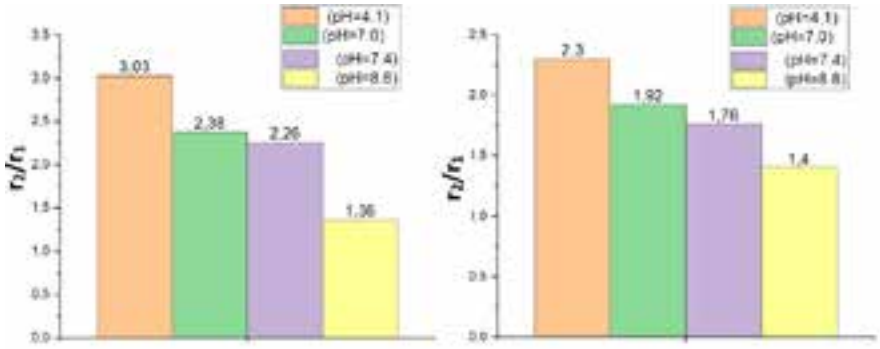


Рисунок 2. Значения r_2/r_1 для $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ при различных pH

Наличие гидроксильных групп в апикальной сфере кластерных анионов создает уникальную предпосылку реализации равновесия (1) [11,13], которое должно сдвигаться вправо при подкислении растворов:

$$[Re_6Q_8(CN)_4(OH)_2]^{4-} + 2H^+ = [Re_6Q_8(CN)_4(H_2O)_2]^{2-} \qquad (1)$$

Сдвиг равновесия (1) вправо приводит к понижению отрицательного заряда кластерного аниона, что должно приводить к дисбалансу заряда в наночастицах, который должен сопровождаться отщеплением катионов, в том числе и ионов марганца. Для оценки pH-зависимого вымывания ионов марганца из $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ были измерены скорости продольной ($1/T_1$) и поперечной релаксации ($1/T_2$) в растворах наночастиц одинаковой

концентрации (рис. 2 а, б), что позволило оценить отношение $(1/T_2)/(1/T_1)$ или r_2/r_1. Из рисунка 2, демонстрирующего рост r_2/r_1 с увеличением кислотности растворов, следует, что степень вымывания ионов марганца увеличивается с уменьшением pH, что подтверждает существенную роль равновесия (1) в вымывании ионов марганца из наночастиц. Следует также отметить, что вымывание ионов марганца существенно ниже для селенидных аналогов наночастиц, которые характеризуются другой (сферической) формой наночастиц (Рис. 2b). В свою очередь форма наночастиц оказывает большое влияние на доступность ионов марганца к взаимодействию с протонами молекул воды. Более того, различие в супрамолекулярной упаковке ионов марганца также может влиять на их степень вымывания. Стоит отметить, что высвобожденные ионы Mn^{2+} в организме могут связываются с белками, что приводит к многократному увеличению релаксивности (до 90 $мМ^{-1}с^{-1}$) и, как следствие, увеличению контрастного эффекта [14]. В частности, аналогичным образом действует коммерчески доступный контрастный агент мангофодипир (Тесласкан) [1].

Изучение цитотоксичности, гемолитической и гемаагглютинирующей активности $Mn_x\{Re_6S_8\}_y$.

К первостепенным важным требованиям, предъявляемым к контрастным агентам, относятся низкая цитотоксичность и отсутствие гемолитической и гемагглютинирующей активности. В таблице 1 приведена выживаемость клеточных линий Ch. Liver и M-Hela в присутствии различных концентраций $Mn_x\{Re_6S_8\}_y$ в пересчете на концентрацию Mn^{2+}. Концентрация полуингибирования, при которой выживаемость клеток составляет 50% (IC_{50}), для клеточных линий Ch. Liver и M-Hela составила 107±9 мкМ и 93±20 мкМ соответственно. Данные значения находятся на том же уровне, что и для ранее опубликованных частиц [10, 11].

Таблица 1. Выживаемость клеточных линий Ch. Liver и M-HeLa, гемолитическая активность $Mn_x\{Re_6S_8\}_y$ при различных концентрациях

C, $Mn_x\{Re_6S_8\}_y$ мкМ	Ch. liver			M-HeLa				
	Viability %		IC_{50} мкМ	Viability %		IC_{50} мкМ	Гемолиз %	HC_{50} мкМ
100.0	48.4	47.0	107±9	51.3	33.1	93±20	0	>100
50.0	72.5	73.2		89.5	73.9		0	
25.0	71.8	79.4		100	88.1		0	
12.5	85.0	81.5		100	100		0	
6.3	81.0	86.1		100	100		0	
3.1	85.7	97.6		100	100		0	
1.5	100	99.7		100	100		0	

Для эффективного и безопасного распределения через кровеносную систему контрастные агенты не должны проявлять геммагглютинирущей активности. Результаты по оценке агглютинационной активности представлены на рисунке 3. В контрольных лунках, содержащих раствор эритроцитов в физиологическом растворе наблюдали плотный слой эритроцитов на дне лунки, указывающий на отсутствие агглютинации (Рисунок 3. отрицательный контроль). Агглютинированные клетки, равномерно распределенные на дне лунки наблюдали в положительном контроле (раствор смеси эритроцитов IV и II групп крови). На рисунке 3 A-F приведена спектроскопия в светлом поле эритроцитов при различной концентрации $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$. Результаты показали, что $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ в концентрации 0.1 mM вызывал небольшое склеивание эритроцитов (агглютинацию), хотя агглютинация абсолютно отсутствует в более низких концентрациях. Небольшая агглютинационная активность данных наночастиц отличиется от еще более низкой активности ранее опубликованных $Mn_x[Re_6\mathbf{Se}_8(CN)_6]_y$@F127, покрытых гидрофильным слоем плюроника [10], что указывает на возможность дальнейшего уменьшения агглютинации НЧц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ за счет их дополнительного гидрофильного покрытия.

Для оценки гемосовместимости $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ была измерена гемолитическая активность наночастиц в широком концентрационном интервале. Данные о гемолитической активности $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ приведены в табл. 1. На основе полученных данных была определена концентрация (HC_{50}), вызывающая гемолиз 50% эритроцитов. Видно, что значения HC_{50} составляет > 0,1 мМ. Полученные результаты свидетельствуют о высокой гемосовместимости НЧц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ по отношению к клеткам крови человека, и данные наночастицы могут представлять интерес для дальнейших исследований на живых объектах.

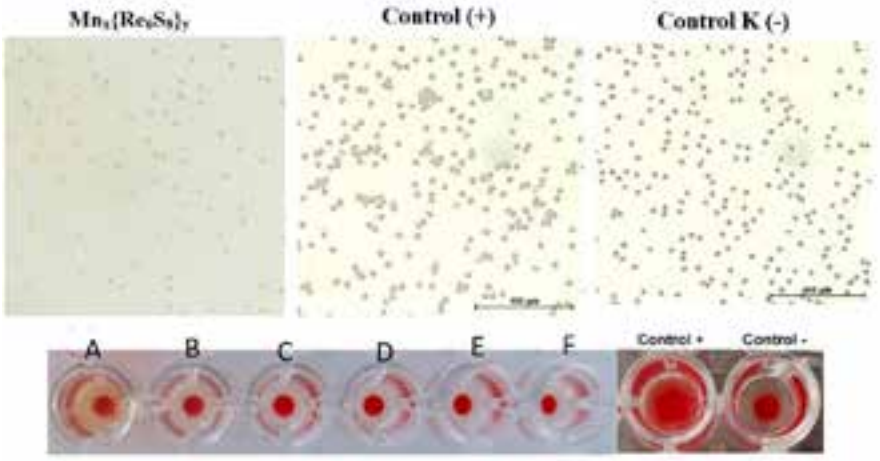


Рис. 2. Микроскопия в светлом поле (Nikon eclipse Ci, x40). Control (-) интактные клетки; Control (+) контроль агглютинации; $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$

Финансовая поддержка

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-13-00010)

Заключение

Таким образом, в работе были синтезированы и охарактеризованы различными методами наночастицы $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$. Полученные результаты позволили провести корреляцию магнитно-релаксационных характеристик наночастиц r_1 и r_2 с их формой, размерами и размерами агрегатов, формирующихся в растворах наночастиц. Более того, было проведено сопоставление характеристик полученных наночастиц с таковыми для $Mn_x[Re_6S_8(CN)_2(OH)_4]_y$, которые были описаны ранее. Как следует из проведенного анализа данных, кластерные анионы с четырьмя апикальными гидроксилами являются более перспективными лигандами для создания высокорелаксивных марганец-содержащих наночастиц по сравнению с их аналогами на основе $[Re_6Q_8(CN)_4(OH)_2]^{4-}$. Причиной этого является склонность к агрегации наночастиц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$. Однако, низкая цитотоксичность и высокая гемосовместимость наночастиц $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ создает предпосылки дальнейшего использования данных наночастиц при условии их дополнительной коллоидной стабилизации. Результаты работы также демонстрируют, что природа Q в структуре $Mn_x\{Re_6\mathbf{S}_8\}_y$ и $Mn_x\{Re_6\mathbf{Se}_8\}_y$ оказывает существенное влияние на размеры и форму наночастиц, что оказывает заметное влияние на степень вымывание ионов марганца из наночастиц в раствор.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Pan, A.H. Schmiederm, S.A.Wicklone, G.M. Lanza, Manganese-based MRI contrast agents: past, present and future. Tetrahedron 2011, 67(44), 8431-8444.
2. H. Liu, Manganese-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry in 2018 by John Wiley & Sons
3. M. Botta, F. Carniato, D. Esteban-Gomez, C. Platas-Iglesias, L. Tei, Mn(II) compounds as an alternative to Gd-based MRI probes. Future Med. Chem. 2019, 11(12), 1461–1483.
4. M. Rogosnitzky, S. Branch, Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms, Biometals. 2016, 29, 365–376
5. P. Caravan, J.J. Ellison, Th.J. McMurry, R.B. Lauffer, Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications, Chem. Rev. 1999, 99, 2293-2352.

6. C.R. Kalaiselvan, S.S. Laha, S.B. Somvanshi, T.A. Tabish, N.D. Thorat, N. K. Sahu, Manganese ferrite ($MnFe_2O_4$) nanostructures for cancer theranostics, Coord. Chem. Rev. 2022, 473, 214809.

7. J.Hao, Y. Zhao, Y. Ma, B. Liu, Y. Luo, S. Alfaifi, X. Su, M. Wu, Advances in the application of manganese dioxide and its composites for theranostics, Inorg. Chem. Front., 2023, 10, 4918-4942.

8. X. Cai, Q.Zhu, Y. Zeng, Q. Zeng, X. Chen, and Y. Zhan, Manganese Oxide Nanoparticles As MRI Contrast Agents In Tumor Multimodal Imaging And Therapy, Int. J. Nanomedicine, 2019, 14, 8321–8344.

9. A,Alhasan, H.A. Tajuddin, S.F.A. Sani, T.H. Ali, Sh. Hisham, M.H.Mokti, N.M. Ung, M.P. Ng, K.S.Sim, Iohexol functionalized Si-Ag:Mn3O4 hybrid nanoparticles based contrast agent for computed tomography imaging, Mat. Today Commun. 33 (2022) 104377

10. B.S. Akhmadeev, I.R. Nizameev, K.V. Kholin, A.D. Voloshina, T.P. Gerasimova, A. T. Gubaidullin, M.K. Kadirov, I.E. Ismaev, K.A. Brylev, R.R. Zairov, A.R. Mustafina, Molecular and Nano-Structural Optimization of Nanoparticulate Mn2+- Hexarhenium Cluster Complexes for Optimal Balance of High T1- and T2-Weighted Contrast Ability with Low Hemoagglutination and Cytotoxicity, Pharmaceutics, 2022, 14, 1508.

11. B.S. Akhmadeev, I.R. Nizameev, K.V. Kholin, A.D. Voloshina, T.P. Gerasimova, A. T. Gubaidullin, A.V. Romashchenko, E.L. Zavjalov, I.V. Kashnik, K.A. Brylev, A.R. Mustafina, Specificity of hexarhenium cluster anions for synthesis of Mn2+-based nanoparticles with lamellar shape and pH-induced leaching for specific organ selectivity in MRI contrasting, J. Colloid Interface Sci., 2024, 659, 1052-1062.

12. E. Boros, E.M. Gale, P. Caravan, MR imaging probes: design and applications, Dalton Trans., 2015, 44, 4804–4818

13. K.A. Brylev, Y.V. Mironov, S.S. Yarovoi, N.G. Naumov, V.E. Fedorov, S.-J. Kim, N. Kitamura, Y. Kuwahara, K. Yamada, S. Ishizaka, Y. Sasaki, A Family of Octahedral Rhenium Cluster Complexes $[Re_6Q_8(H_2O)_n(OH)_{6-n}]^{n-4}$ (Q = S, Se; n = 0–6): Structural and pH-Dependent Spectroscopic Studies, Inorg. Chem., 2007, 46, 7414–7422.

14. M.Z. Köylü, S. Asubay, A.Yilmaz, Determination of Proton Relaxivities of Mn(II), Cu(II) and Cr(III) added to Solutions of Serum Proteins, Molecules, 2009, 14, 1537-1545.

ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИДОКСИНА - АКТИВАТОРЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF2 КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

А.А. Балакина, В.И. Амозова, Т.Р. Приходченко, Д.В. Мищенко

ФИЦ Проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Московская область, Российская Федерация

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из основных причин смертности как в Российской Федерации, так и в мире. Создание новых соединений с кардиопротекторными свойствами является актуальной задачей для исследований в области медицинской химии. Транскрипционный фактор Nrf2 играет критическую роль в поддержании клеточного гомеостаза, регулируя транскрипцию цитопротекторных генов. Предполагается, что фармакологическая активация Nrf2 может стать ключевой стратегией в профилактике нейродегенеративных, воспалительных и сердечно-сосудистых заболеваний. В моделях большинства хронических заболеваний усиление гомеостаза с помощью активаторов Nrf2 обеспечивает положительный терапевтический эффект.

Витамин B_6 (пиридоксин) является природным соединением с широким спектром антиоксидантной активности [1]. Пиридоксин широко применяется на территории РФ в комплексном лечении и профилактике различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе ишемической болезни сердца, стенокардии II–III степени, инфаркта миокарда, ишемического инсульта (например, препарат «Витабс® кардио»). На модели нейродегенеративных заболеваний было показано, что пиридоксин может активировать путь Nrf2/HO-1, что повышает активность антиоксидантной системы и регенеративного потенциала клеток [2]. Молекула пиридоксина представляет собой перспективный предшественник для создания на ее основе новых соединений с потенциалом антиоксидантной активности [3]. Одними из таких соединений являются 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния сукцинат – Мексидол и 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния гидрохлорид – Эмоксипин, которые применяются в терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы на территории РФ [4]. Несмотря на большое количество научных работ, посвященных исследованию производных пиридоксина в РФ, использование таких соединений в качестве активаторов Nrf2 ранее не рассматривалось.

Нами был предложен новый подход к созданию кардиопротекторных молекул на основе пиридоксина – объединение в одной структуре пиридоксина и молекулы, которая могла бы усилить активность транскрипционного фактора Nrf2. В ФИЦ ПХФ и МХ РАН были получены новые структуры производных пиридоксина, содержащие в своем составе нитроксиянтарную

кислоту – нитроксисукцинат ди(3-гидрокси-4,5-бис(гидроксиметил)-2-метилпиридиния) (НСП-1) и нитроксисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния (НСП-2) [5-7]. Было показано, что введение нитрогруппы в состав соединения позволяло как повысить антиоксидантные свойства молекулы [6-8], так и способствовало усилению внутриклеточного образования монооксида азота (NO) – регулятора многих важнейших процессов в живых системах, в том числе функционирования сердечно-сосудистой системы (рис. 1А).

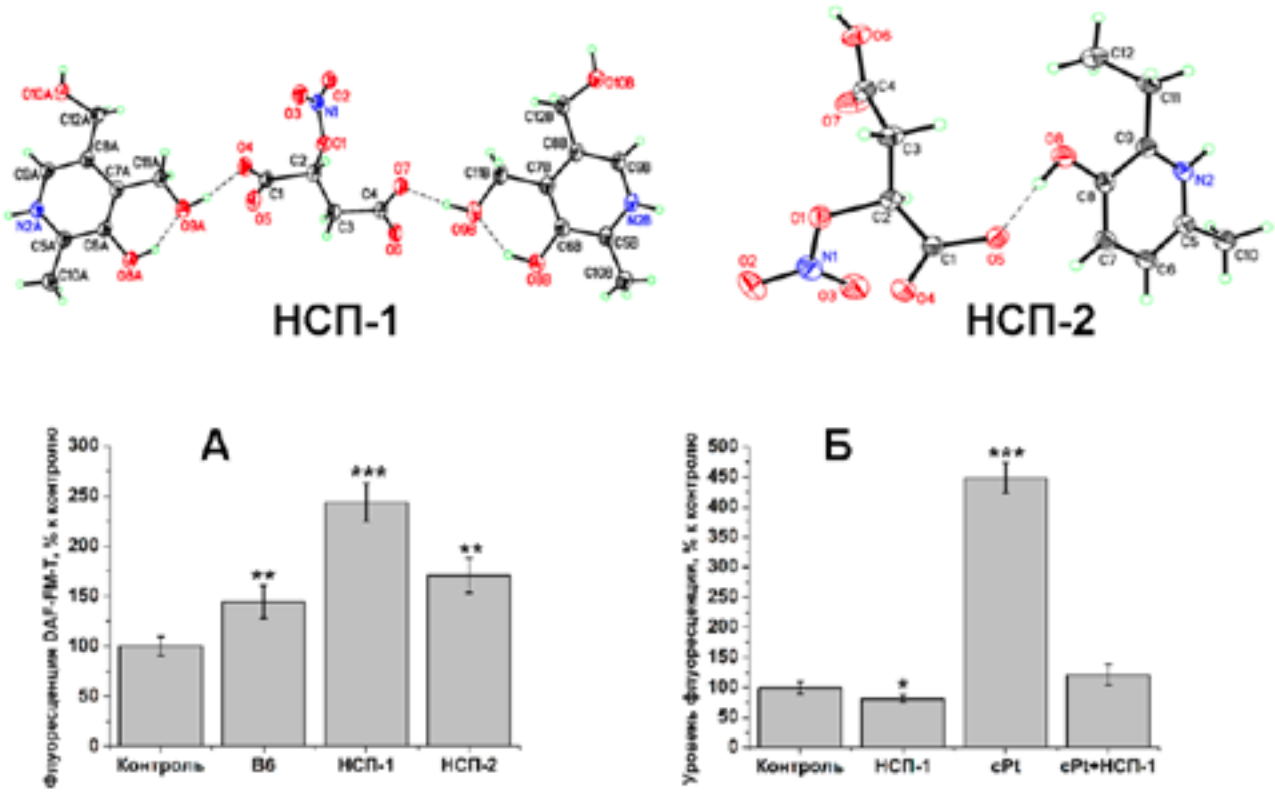


Рисунок 1. Структуры производных пиридоксина НСП-1 и НПС-2. Влияние витамина B_6 и его производных в концентрации 100 мкМ на внутриклеточное содержание монооксида азота по изменению флуоресценции DAF-FM в эмбриональных мезенхимальных стволовых клетках человека FetMSC (А). Влияние соединения НСП-1 в концентрации 40 мкМ на внутриклеточное содержания асимметричного диметиларгинина (ADMA) в норме и при активации окислительных процессов препаратом цисплатин (cPt) по результатам иммунофлуоресцентного окрашивания в клетках FetMSC (Б). Достоверность различий показана относительно контроля как *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

Известно, что NO способен активировать ядерную транслокацию Nrf2 и его ядерную стабилизацию [9]. В нормальных условиях Nrf2 является коротко живущим белком с периодом полураспада 15-20 мин, локализован в цитозоле и связан с белком-ингибитором Keap1 – субстратным адаптером для убиквитинлигазы E3 [10]. При окислительном стрессе или воздействии активаторов происходят модификации редокс-чувствительных тиоловых групп цистеинов белка Keap1, что приводит к диссоциации комплекса Nrf2-Keap1, а также предотвращению убиквитинирования и протеасомной деградации Nrf2 [11]. При повышении

уровня внутриклеточных АФК Nrf2 транслоцируется в ядро и активирует цитопротекторные ARE-гены, что способствует подавлению окислительного стресса и выживанию клеток. Показано, что Nrf2 активируется при действии не только индукторов окислительного стресса, но и некоторых физиологически активных соединений, обеспечивая тем самым их терапевтическую эффективность [12]. Исследование производных пиридоксина в качестве активаторов Nrf2 показало, что соединение НСП-1 обладает способностью увеличивать внутриклеточное накопление транскрипционного фактора, способствует его ядерной транслокации и увеличению экспрессии ряда его белков-мишеней (рис. 2).

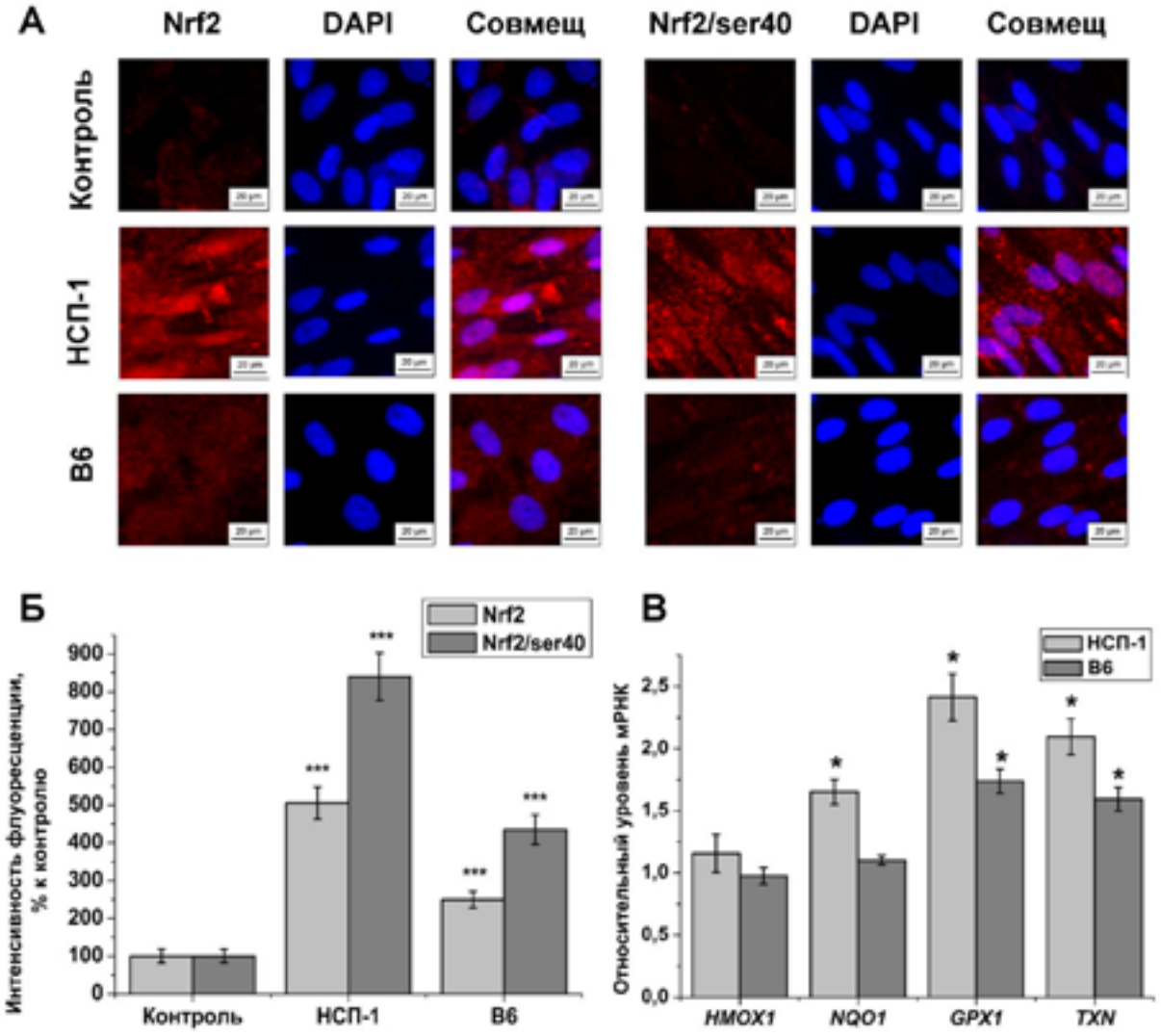


Рисунок 2. Иммунофлуоресцентное окрашивание эмбриональных мезенхимальных стволовых клеток человека FetMSC с антителами к белку Nrf2 и его фосфорилированной форме Nrf2/ser40 в присутствии 40 мкМ НСП-1 и витамина B_6 (А). Количественный анализ результатов иммунофлуоресцентного окрашивания (Б). Влияние соединения НСП-1 и витамина B_6 в концентрации 40 мкМ на экспрессию генов-мишеней Nrf2 в клетках FetMSC (В). Достоверность различий показана относительно контроля как *P<0.05, ***P<0.001

Определен молекулярный механизм действия НСП-1 на Nrf2-зависимые клеточные процессы *in vitro*, при этом, выявленные эффекты значительно превышали результаты, полученные для пиридоксина. Соединение НСП-1 способно повышать внутриклеточное содержание монооксида азота не только за счет биотрансформации нитрогрупп, но и увеличивать эффективность биосинтеза NO синтазами, подавляя образование асимметричного диметиларгинина (ADMA) – одного из маркеров развития ССЗ (рис. 1Б). Присутствие соединения НСП-1 усиливает стабилизацию транскрипционного фактора Nrf2 за счет его фосфорилирования киназой PKC [13], что приводит к значительному накоплению неактивного транскрипционного фактора в цитозоле клеток, вследствие подавления процессов убиквитинирования. Повышение внутриклеточного содержания NO приводит к ядерной транслокации Nrf2 и усилению экспрессии таких его мишеней как НАДФ:хинооксидоредуктаза 1 (NQO1), глутатионпероксидаза (GPX-1) и тиоредоксин (TXN).

Важными свойствами нового соединения является его низкая токсичность (4 класс токсичности, малотоксично) в экспериментах *in vivo*, что позволяет использовать его в широком диапазоне концентраций. При введении лабораторным животным в дозе 10 мг/кг соединение НСП-1 значительно увеличивало накопление транскрипционного фактора Nrf2 в тканях сердца, повышало уровень экспрессии белков антиоксидантной системы, обеспечивающих кардиопротекторное действие – гемоксигеназы 1 (НО-1), NQO1, GPX-1 и TXN (рис. 3).

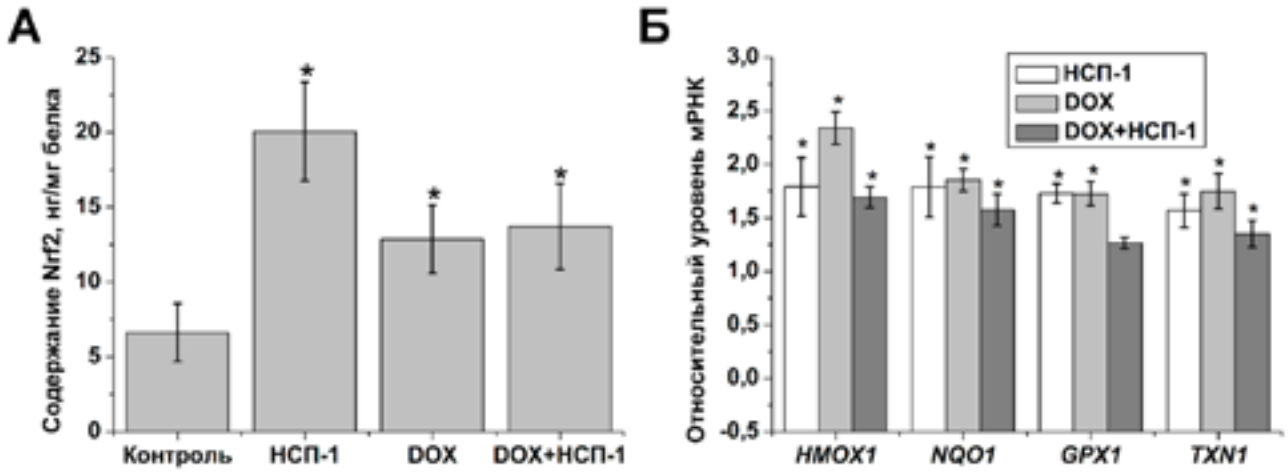


Рисунок 3. Содержание транскрипционного фактора Nrf2 в тканях сердца мышей при введении НСП-1 (10 мг/кг) и доксорубицина (15 мг/кг) по данным иммуноферментного анализа(А). Влияние НСП-1 (10 мг/кг) и доксорубицина (15 мг/кг) на экспрессию генов-мишеней Nrf2 в тканях сердца мышей (Б). Достоверность различий показана относительно контроля как *P<0.05

Кардиопротекторный потенциал соединения был подтвержден при моделировании окислительных процессов в тканях сердца лабораторных животных высокими (15 мг/кг) дозами доксорубицина. Широко известно, что доксорубицин обладает ярко выраженной кардиотоксичностью [14], вызванной в том числе окислительным стрессом в тканях сердца и

подавлением антиоксидантной системы [15]. Введение НСП-1 совместно с доксорубицином существенно изменяло прооксидантное действие последнего на сердечно-сосудистую систему лабораторных животных (рис. 4). Так, соединение НСП-1 подавляло развитие окислительного стресса в тканях сердца, что сопровождалось снижением образования малонового диальдегида, повышением содержания восстановленного глутатиона и увеличение активности супероксиддисмутазы. В крови животных наблюдали снижение активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфотазы – маркеров нарушений работы сердечно-сосудистой системы.

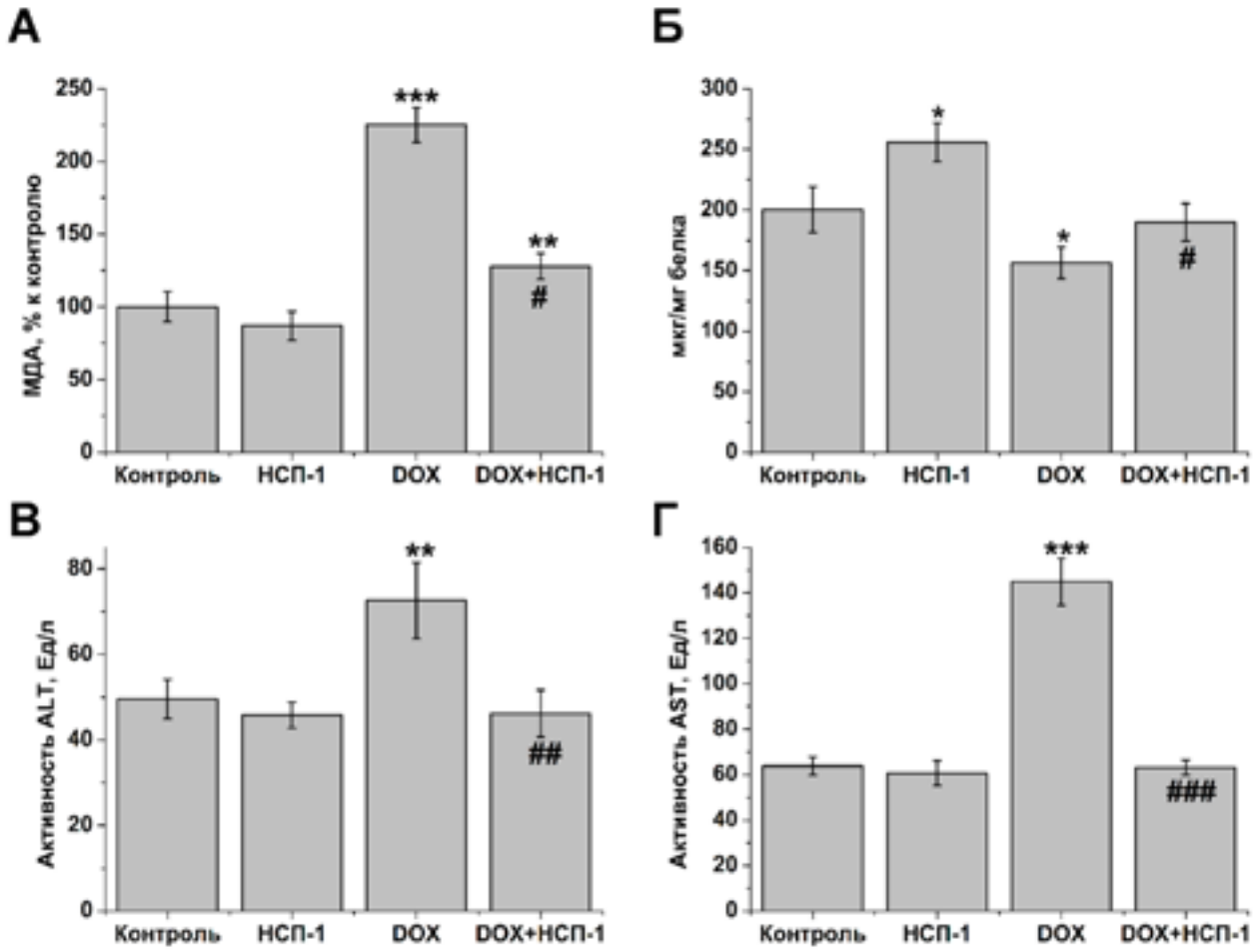


Рисунок 4. Содержание малонового диальдегида (А) и восстановленного глутатиона (Б) в тканях сердца мышей при введении НСП-1 (10 мг/кг) и доксорубицина (15 мг/кг). Активность аланинаминотрансферазы (В) и аспартатаминотрансферазы (Г) в крови мышей при введении НСП-1 (10 мг/кг) и доксорубицина (15 мг/кг). Достоверность различий показана относительно контроля как *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001; относительно доксорубицина как $^{\#}$P<0.05, $^{\#\#}$P<0.01, $^{\#\#\#}$P<0.001

Возможность совместного применения новых активаторов Nrf2 в качестве кардиопротекторных соединений с противоопухолевыми препаратами является их важнейшей характеристикой. Поскольку нежелательное усиление Nrf2-зависимых защитных процессов

может способствовать выживанию и росту опухолевых клеток, а также возникновению резистентности к различным типам терапии, в научном и медицинском сообществе нет однозначного мнения, оправдано ли применение антиоксидантов в сочетании с химиотерапевтическими препаратами. С одной стороны, наблюдаемые эффекты зависят от типа антиоксиданта, характера опухоли и вида лечения, с другой стороны, поиск новых соединений с потенциальной антиоксидантной активностью для комбинированной терапии с известными противоопухолевыми препаратами по-прежнему играет важную роль в онкологических исследованиях [16]. Исследования на моделях *in vitro* показали избирательность антиоксидантного действия НСП-1 по отношению к неопухолевым клеткам, а также его способность подавлять деление опухолевых клеток и усиливать их апоптотическую клеточную гибель [17]. Кроме того, соединение НСП-1 было изучено на модели перевиваемых опухолей животных (меланома B16 мышей) *in vivo* в комбинации с противоопухолевым препаратом цисплатин. В результате исследований, выявлен уникальный эффект новой молекулы: активация транкрипционного фактора Nrf2 и его генов-мишеней происходила в тканях сердца, но не наблюдалась в опухолевых клетках (рис. 5). Также, НСП-1 не снижало эффективности противоопухолевой терапии, сохраняя ранее выявленную кардиопротекторную активность.

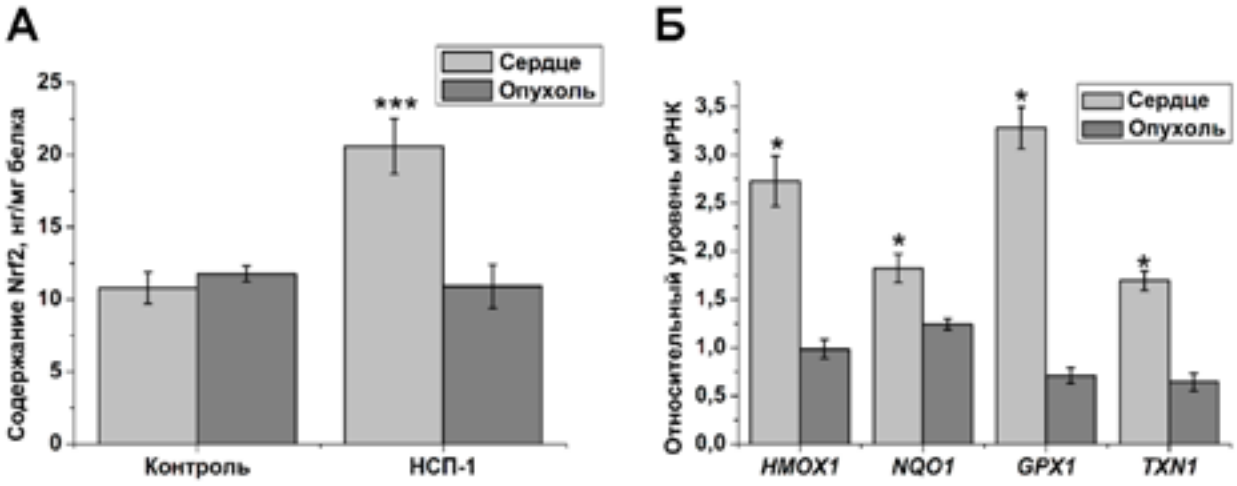


Рисунок 5. Содержание транскрипционного фактора Nrf2 в тканях сердца и опухолей мышей с меланомой B16 при введении НСП-1 (10 мг/кг) по данным иммуноферментного анализа(А). Влияние НСП-1 (10 мг/кг) на экспрессию генов-мишеней Nrf2 в тканях сердца и опухолей мышей с меланомой B16 (Б). Достоверность различий показана относительно контроля как *P<0.05, ***P<0.001

Полученные результаты свидетельствуют об огромном потенциале производных витамина B6 в качестве активаторов транскрипционного фактора Nrf2. Новое гибридное соединение – производное пиридоксина нитроксисукцинат ди(3-гидрокси-4,5-бис(гидроксиметил)-2-метилпиридиния) обладает не только способностью активировать Nrf2-зависимые процессы и проявлять ярко выраженные кардиопротекторные свойства, но и является

удобным объектом для разработки на его основе лекарственных средств за счет низкой стоимости исходных компонентов и отработанной технологии масштабирования его синтеза. Как правило, антиоксидантную активность пиридоксина и его производных, таких как Мексидол и Эмоксипин, обосновывают способностью этих молекул взаимодействовать с активными формами кислорода: ингибировать образование супероксидных радикалов и синглетного кислорода, ингибировать перекисное окисление липидов, напрямую реагируя с пероксидными радикалами. Мы предлагаем принципиально новый подход к модификациям таких молекул, основанный на их способности значительно менять эффективность функционирования антиоксидантной системы клеток в целом, направляя их действие на основную мишень – транскрипционный фактор Nrf2, при этом сохраняя все полезные свойства самого пиридоксина. Создание соединений путем различных сочетаний молекул, обладающих антиоксидантными свойствами и свойствами активатора Nrf2 открывают широкие перспективы для медицинской химии и позволят значительно повысить их биологическую активность.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ № FFSG-2024-0012

ЛИТЕРАТУРА

1. Kannan K., Jain S.K. Effect of vitamin B6 on oxygen radicals, mitochondrial membrane potential, and lipid peroxidation in H2O2-treated U937 monocytes // Free Radical Biology and Medicine. – 2004. – Vol. 36, No. 4. P. 423-428.

2. Li C., Wang R., Hu C., Wang H., Ma Q., Chen S., He Y. Pyridoxine exerts antioxidant effects in cell model of Alzheimer's disease via the Nrf-2/HO-1 pathway // Molecular and Cellular Biology. – 2018. – Vol. 64, No. 10. P. 119-124.

3. Oka T. Modulation of gene expression by vitamin B6 // Nutrition Research Reviews. – 2001. – Vol. 14, No. 2. P. 257-266.

4. Стаховская Л.В., Котов С.В., Инсульт. Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2014. – 400с.

5. RU 2712914 C2, 03.02.2020.

6. Balakina A., Prikhodchenko T., Amozova V., Stupina T., Mumyatova V., Neganova M., Yakushev I., Kornev A., Gadomsky S., Fedorov B., Mishchenko D. Preparation, Antioxidant Properties and Ability to Increase Intracellular NO of a New Pyridoxine Derivative B6NO // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, No. 9. P. 1451.

7. Балакина А.А., Приходченко Т. Р., Якушев И. А., Амозова В. И., Мумятова В. А., Корнев А. Б., Терентьев А. А., Гадомский С. Я., Дороватовский П. В., Федоров Б. С., Мищенко Д. В. Структура и биологическая активность нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридиния // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2023. – . № 72 (7). – С. 1618-1631.

8. Приходченко Т.Р., Балакина А.А., Амозова В.И., Гадомский С.Я., Мищенко Д.В. Антиоксидантные свойства натроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридиния при активации

окислительных процессов противоопухолевым препаратом цисплатин in vivo и in vitro // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2022. – №. 12. С. 2629-2635.

9. Li M.H., Cha Y.N., Surh Y.J. Peroxynitrite induces HO-1 expression via PI3K/Akt-dependent activation of NF-E2-related factor 2 in PC12 cells // Free Radical Biology and Medicine. – 2006. – Vol. 41, No. 7. P. 1079-1091.

10. Vashi R., Patel B.M. NRF2 in Cardiovascular Diseases: a Ray of Hope! // Journal of Cardiovascular Translational Research. – 2021. – Vol. 14, No. 3. P. 573-586.

11. Fahey J.W., Haristoy X., Dolan P.M., Kensler T.W., Scholtus I., Stephenson K.K., Talalay P., Lozniewski A. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2002. – Vol. 99, No. 11. P. 7610-7615.

12. Kwak M.K., Wakabayashi N., Kensler T.W. Chemoprevention through the Keap1-Nrf2 signaling pathway by phase 2 enzyme inducers // Mutation Research. – 2004. – Vol. 555, No. 1-2. P. 133-148.

13. Huang H.C., Nguyen T., Pickett C.B. Phosphorylation of Nrf2 at Ser-40 by protein kinase C regulates antioxidant response element-mediated transcription // Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 277, No. 45. P. 42769-42774.

14. Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments // Nature Reviews Cardiology. – 2015. – Vol. 12, No. 9. P. 547-558.

15. Alexieva B., Sainova I., Pavlova V., Markova T., Valkova I., Nikolova E. Insights into mechanisms of doxorubicin cardiotoxicity // Journal of Physiology and Pharmacology Advances. – 2014. – Vol. 4, No. 3. P. 342–348.

16. Milkovic L., Siems W., Siems R., Zarkovic N. Oxidative stress and antioxidants in carcinogenesis and integrative therapy of cancer // Current Pharmaceutical Design. – 2014. – Vol. 20, No. 42. P. 6529-6542.

17. Балакина А.А., Амозова В.И., Приходченко Т.Р., Ступина Т.С., Мищенко Д.В. Влияние производного пиридоксина B6NO на активность транскрипционного фактора NRF2 и цитотоксические свойства доксорубицина *in vitro* // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2023. – № 4. С. 265-275.

ДИЗАЙН ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НА ОСНОВЕ ДИАМИНОКАРБЕНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПАЛЛАДИЯ

М.А. Кинжалов,[1*] Т.В. Серебрянская,[2] А.С. Бунев[3]

[1]Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

[2]Научно-исследовательский институт физико-химических проблем, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

[3]Центр медицинской химии, Тольяттинский государственный университет, Тольятти, Россия

**e-mail: m.kinzhalov@spbu.ru*

Онкологические заболевания – одна из наиболее серьезных проблем нашего времени. По данным Всемирной организации здравоохранения, рак занимает второе место среди причин смертности в мире. Современные препараты для химиотерапии онкологических заболеваний могут замедлять или останавливать рост раковых клеток, однако они также оказывают сильное воздействие на здоровые клетки, что негативно сказывается на общем состоянии пациента. Именно поэтому мировая наука активно работает над созданием новых, более эффективных методов лечения рака, которые не будут повреждать здоровые ткани.

В силу разнообразия координационных чисел центрального атома-комплексообразователя комплексные соединения переходных металлов способны обеспечить более высокую топологическую сложность, и, следовательно, более высокую специфичность связывания с биологическими мишенями по сравнению с большинством органических соединений. Используемые в настоящее время в клинической практике протоколы лечения онкологических заболеваний включают химиотерапевтические препаратов на основе соединений платины(II). Они значительно улучшают общую выживаемость пациентов, однако их эффективность ограничена развитием приобретаемой лекарственной резистентности и нежелательными побочными эффектами. Соединения палладия обладают более низкой токсичностью по сравнению с используемыми в химиотерапии соединениями платины, но долгое время такие вещества считались бесперспективными для медицинского использования из-за их быстрого разложения в организме вследствие низкой термодинамической стабильности и высокой скорости лигандного обмена [1]. Среди возможных соединений палладия(II) с органическими лигандами комплексы с диаминокарбеновыми лигандами занимают особое место в дизайне потенциальных противоопухолевых препаратов в виду прочности связи металл-углерод и гидролитической стабильности, в том числе в физиологических условиях [2]. Неудивительно, что на основе стабильных комплексов палладия(II) с диаминокарбеновыми лигандами был получен ряд металлсодержащих препаратов с высоким уровнем

противоопухолевой активности *in vitro* и *in vivo*, в том числе по отношению к типам опухолей, резистентных к действию цисплатину и его производным. Однако до недавнего времени все опубликованные результаты относились к исследованию противоопухолевой активности комплексов палладия(II) с *N*-гетероциклическими карбеновыми лигнадами (NHC) [1]. Оценка возможности управления структурой карбеновых лигандов и анализ их способности к нековалентному связыванию с биомолекулами показывают, что привлечение соединений палладия(II) с ациклическими диаминокарбеновыми лигнадами (ADC) гораздо более перспективно с точки зрения создания препаратов направленного действия [3]. Кроме того, необходимо отметить высокую синтетическую доступность комплексов с ациклическими диаминокарбеновыми лигандами. Наибольшее распространение получил подход, основанный на металлопромотируемом нуклеофильном присоединении к координированным изоцианидам и приводящий к получению диминокарбеновых комплексов металлов без выделения свободного карбена. Этот метод позволяет получать широкую гамму диаминокарбеновых металлокомплексов, включая монодентатные, а также *C,N*- и *C,C'*-хелатные производные в зависимости от количества донорных центров и их взаимного расположения в структуре нуклеофила. Данный способ синтеза соответствует принципам «зелёной химии», поскольку он «атомэкономичен», обеспечивает высокую скорость получения целевого продукта и его значительный выход [2], что несомненно важно для последующего использования в производстве лекарств. Доминантная часть исследований в этой области выполнена учеными научной школы академика РАН В. Ю. Кукушкина [4], к числу которых себя относит сообщающий автор данного материала.

Настоящий доклад представляет результаты исследования антипролиферативных свойств и механизма действия комплексов палладия(II) с ациклическими диаминокарбенами, которые были получены коллективом авторов за последние 10 лет. Исследования показывают, что в зависимости от структуры диаминокарбенового лиганда, устойчивости координационной сферы металлокомплекса и его растворимости, эффективность изученных диаминокарбеновых производных в ингибировании пролиферации опухолевых клеток может варьироваться в широком диапазоне концентраций, достигая значений $ИК_{50}$ на уровне наномолярных концентраций (Рис. 1).

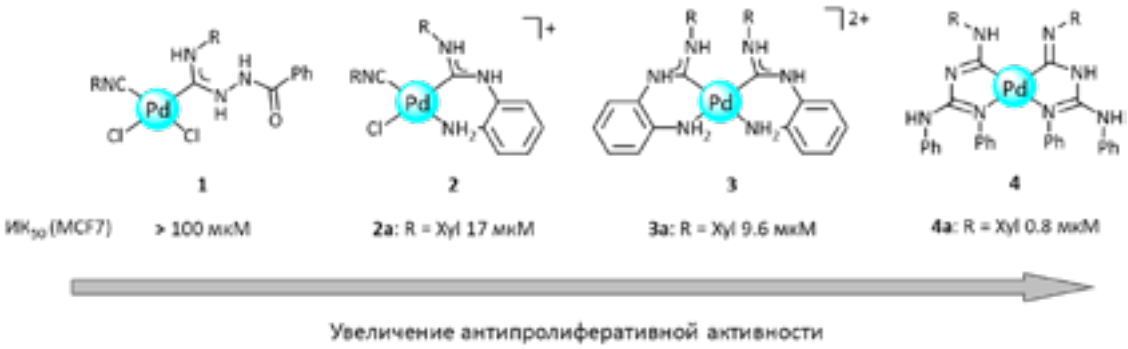


Рис. 1. Структурные формулы гидролитически стабильных диаминокарбеновых комплексов палладия(II) и их антипролиферативная активность в отношении клеточной линии аденокарциномы молочной железы человека MCF7

Анализ полученных результатов показывает, что решающим фактором, оказывающим влияние как на выраженность антипролиферативных свойств исследуемых соединений, так и на механизм их действия является устойчивость координационных связей в реакциях нуклеофильного замещения. Все изученные соединения характеризуются высокой устойчивостью связей металл-углерод, а также гидролитической устойчивостью. Однако, как было показано при изучении взаимодействия металлокомплексов **2**–**4** с модельными азот- и серусодержащими нуклеофилами, а также двуспиральной ДНК в бесклеточной среде, данные производные существенно отличаются устойчивостью координационных связей Pd–N/Cl. Благодаря существенной лабилизации связей Pd–N/Cl, расположенных в *транс*-положении по отношению к диаминокарбеновым лигандам, производные **2** и **3** легко вступают в реакции замещения с модельными нуклеофилами, а также с азотистыми основаниями ДНК с образованием моно- либо бифункциональных продуктов замещения. Как подтверждают результаты исследования протонирования ДНК, координация металлоцентра, как и в случае цисплатина и его аналогов, происходит по атому N^7 гуанина. Важно отметить, что комплекс палладия(II) **3** взаимодействует с ДНК намного быстрее, чем аналогичный комплекс платины(II), что объясняется более быстрым обменом лигандами в соединениях палладия(II) и согласуется с высказанной гипотезой. Таким образом, с точки зрения механизма действия, производные **2** и **3** являются функциональными антипролиферативными агентами и их взаимодействие с основной биологической мишенью (ДНК) происходит за счет образования ковалентных связей. Предлагаемый механизм действия объединяет данные металлокомплексы с другими алкилирующими агентами на основе металлокомплексов платины (в частности, цисплатином и его аналогами) и согласуется с микромолярным диапазоном антипролиферативной активности, характерным для данных производных.

В отличие от комплексов **2** и **3**, группа гидролитических стабильных комплексов палладия(II) **4** с бигуанидоподобными *C,N*-хелатирующими диаминокарбеновыми лигандами, отличается высокой устойчивостью координационных связей Pd–N. Экспериментальные данные указывают на отсутствие взаимодействия данных металлокомплексов с модельными основаниями, а также двуспиральной ДНК в бесклеточной среде. Полученные данные свидетельствуют о том, что основной мишенью исследуемых комплексов являются митохондрии, нарушение в работе которых под действием комплексов группы **4** приводит к высвобождению активных форм кислорода, перекисному окислению липидов и последующей массовой гибели опухолевых клеток путем апоптоза. Совокупность имеющихся сведений указывает на то, что соединения группы **4** представляют собой структурные антипролиферативные агенты взаимодействие которых с их биологической мишенью (мембраны митохондрий) происходит за счет образования слабых нековалентных связей (водородные связи, гидрофобные взаимодействие и т.д.). Данное предположение согласуется с высокой антипролиферативной активностью указанной группы металлокомплексов, которая существенно зависит от строения заместителя R и может достигать наномолярных значений ($ИК_{50} < 0.1$ мкМ).

Природа и строение заместителя R является вторым по значимости фактором, который оказывает влияние на выраженность антипролиферативных свойств всех изученных классов диаминокарбеновых комплексов палладия. Установлено, что антипролиферативная активность комплексов **3** и **4** существенно возрастает при переходе от алкилзамщенных производных к арильным аналогам. Предполагается, что данное влияние обусловлено большим содержанием протонодонорных NH-групп в составе диаминокарбеновых лигандов в непосредственной близости от металлоцентра. Данные группировки способны участвовать в прототропных превращениях, а также образовании водородных связей с потенциальными биологическими мишенями (например, ДНК). Донорно-акцепторные свойства заместителя R напрямую влияют на кислотно-основные свойства исследуемых металлокомплексов, прочность образуемых ими внутри- и межмолекулярных водородных связей и таким образом могут оказывать влияние на выраженность антипролиферативных свойств. В частности установлено, что соединения группы **3** способны образовывать межмолекулярные сшивки ДНК (рис. 2). Взаимодействие происходит посредством комбинации нековалентного и ковалентного связывания. Нековалентное взаимодействие соединений типа **3** с ДНК реализуется посредством образования водородных связей с фосфатными группами по механизму «фосфатная клешня», ранее описанному для плоско-квадратных тетрааминокомплексов платины(II). Один фрагмент O=P фосфатной группы ДНК действует как акцептор двух водородных связей, образованных с участием атомов водорода (по одному от каждого из двух *цис*-ориентированных диаминокарбеновых лигандов). Поэтому способность соединений к образованию водородных связей влияет на их противоопухолевое

действие – комплексы с арилзамещенными диаминокарбенами с более кислыми атомами водорода проявляют большую цитотоксичность ($ИК_{50}$ ~ 10 мкМ для клеточной линии MCF7) по отношению ко всем изученным клеточным линиям по сравнению с алкилзамещенными аналогами с менее кислыми атомами водорода.

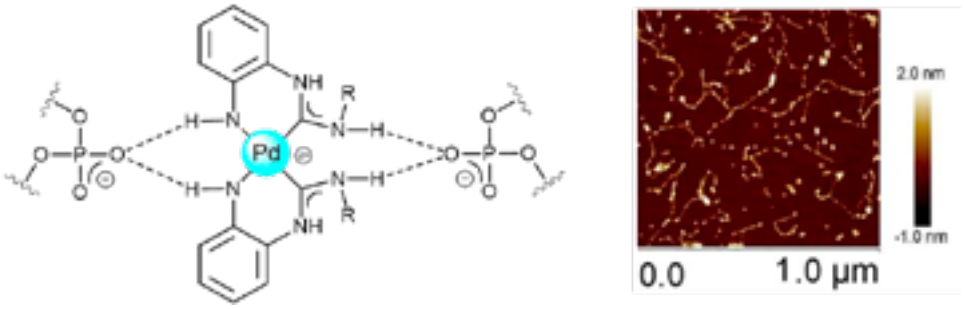


Рис. 2. Слева: Схематическое изображение связывания соединений группы **3** с ДНК за счёт образования водородных связей между атомами водорода двух *цис*-расположенных диаминокарбеновых фрагментов и фрагментом O=P фосфатной группы ДНК («фосфатная клешня»). Справа: Визуализация взаимодействия ДНК с цитостатиком **3a**, полученная метод атомно-силовой микроскопии [5]. Изображение демонстрирует образование межмолекулярных сшивок ДНК при взаимодействии с металлоорганическим соединением

Следует отметить, что в случае комплексов группы **4** антипролиферативная активность возрастает не только при переходе от алкил-замещенных производных к арильным аналогам, но также существенно зависит от степени замещения и положения заместителей в арильном кольце ($ИК_{50}$ уменьшается в ряду R = C_6H_4-4-Me >> C_6H_3-2,4-Me_2 > C_6H_2-2,4,6-Me_3). Соединения группы **4** могут воздействовать на разные типы раковых клеток, однако наибольший фармакологический потенциал они продемонстрировали на линии трижды негативного рака молочной железы MDA-MB-231. Этот вид рака является очень агрессивным, устойчивым к гормональной терапии и сложно поддается лечению – онкологи ограничены в выборе лечения и могут применять только химиотерапию как единственный способ лечения пациентов с трижды негативным раком молочной железы. Установлено, что соединение-лидер **4a** (R = C_6H_2-2,4,6-Me_3, $ИК_{50}$ = 0.07 мкМ) обладает по крайней мере в 300 раз большей активностью, чем цисплатин, ($ИК_{50}$ = 22.30 мкМ для клеточной линии MDA-MB-231) *in vitro*, обладает более высокой селективностью в отношении опухолевых клеток по сравнению с первичными фибробластами (индексы селективности достигают 335 и значительно превышают индексы селективности цисплатина (2-5)), а также сохраняет высокую антипролиферативную активность в условиях гипоксии благодаря способности преодолевать механизмы множественной лекарственной устойчивости,

возникающие в опухолях трижды негативного рака молочной железы в условиях депривации кислорода и уменьшающие эффективность существующих препаратов. Соединение-лидер **4a** оказалось менее токсичным для организма мышей, чем цисплатин, и превзошло его в эффективности при лечении рака молочной железы. Результаты исследования на мышах с имплантированными человеческими опухолями показали, что применение нового препарата замедлило рост опухолей по сравнению с контрольной группой. В течение 35 дней терапии было замечено снижение роста на 75% по сравнению с мышами, не получавшими лечение.

В настоящее время коллектив ученых продолжает эксперименты на млекопитающих с целью выявления конкретных терапевтических целей и совершенствования препаратов направленного действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Scattolin T., Voloshkin V.A., Visentin F., Nolan S.P. A critical review of palladium organometallic anticancer agents // Cell Rep. Phys. Sci. – 2021. – V. 2. – P. 100446. DOI: 10.1016/j.xcrp.2021.100446.
2. Kinzhalov M.A., Luzyanin K.V. Synthesis and Contemporary Applications of Platinum Group Metals Complexes with Acyclic Diaminocarbene Ligands (A Review) // Russ. J. Inorg. Chem. – 2022. – V. 67. – P. 48–90. DOI: 10.1134/S0036023622010065.
3. Kinzhalov M.A., Luzyanin K.V. Reactivity of acyclic diaminocarbene ligands // Coord. Chem. Rev. – 2019. – V. 399. – P. 213014. DOI: 10.1016/j.ccr.2019.213014.
4. Kinzhalov M.A. Scientific School of Academician V.Yu. Kukushkin at St. Petersburg University (A Review) // Russ. J. Gen. Chem. – 2024. – V. 94. – P. DOI: 10.1134/S1070363224140123. DOI: 10.1134/S1070363224140123.
5. Serebryanskaya T.V., Kinzhalov M.A., Bakulev V., Alekseev G., Andreeva A., Gushchin P.V., Protas A., Smirnov A., Panikorovskii T.L., Lippmann P., Ott I., Verbilo C.M., Zuraev A., Bunev A.S., Boyarskiy V., Kasyanenko N.A. Water Soluble Palladium(II) and Platinum(II) Acyclic Diaminocarbene Complexes: Solution Behavior, DNA Binding, and Antiproliferative Activity // New J. Chem. – 2020. – V. 44. – P. 5762–5773. DOI: 10.1039/D0NJ00060D.
6. Katkova S.A., Bunev A.S., Gasanov R.E., Khochenkov D.A., Kulsha A.V., Ivashkevich O.A., Serebryanskaya T.V., Kinzhalov M. Metal-(Acyclic Diaminocarbene) Complexes Demonstrate Nanomolar Antiproliferative Activity against Triple-Negative Breast Cancer // Chem. Eur. J. – 2024. – V. n/a. – P. e202400101. DOI: 10.1002/chem.202400101.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВНУТРИКОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГЕРМАНИЯ

Ю.А. Кондратенко[1], Д.В. Лёзов[1*], А.А. Штро[2], Т.А. Кочина[1]

[1]Институт химии силикатов им. И.В. Гребенщикова РАН, наб. Макарова, 2, Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

[2]ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, ул. проф. Попова 15/17, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

**e-mail*: lyo-denis@yandex.ru

В ряду герматранов 1-герматранол гидрат является наиболее широко изученным соединением, обладающим широким спектром биологической активности. Его синтез основан на одностадийной реакции трис(2-гидроксиэтил)амина с диоксидом германия в водной среде без использования органических растворителей. В данной работе используя данный подход были синтезированы новые потенциально биологически активные соединения германия с гидроксиалкиламинами, сульфо- и аминокислотами, содержащими гидроксиалкильные группы, которые были рассмотрены нами как новые аналоги биологически активного 1-герматранол гидрата. Их образование было подтверждено данными элементного анализа, ИК и ЯМР спектроскопии. Pass анализ был использован, чтобы оценить профиль фармакологической активности новых соединений. Представлены *in vitro* результаты исследования противовирусной активности (вирус гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2)) синтезированных соединений.

Ключевые слова: германий, атраны, буферы Гуда, герматраны, триэтаноламин, трис(гидроксиметил)аминометан, вирус гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2)

Введение

Германий является биологически активным микроэлементом и содержится практически во всех органах и тканях организма человека. Сверхмалые дозы германия жизненно важны для иммунной системы [1]. За последние десятки лет синтезировано огромное количество органических производных германия, в том числе соединений, обладающих широким спектром биологической активности [2-11]. В их ряду наибольшую известность получил бис-2-карбоксиэтил сесквиоксидгермания (Ge-132), с которого началось активное изучение биологической активности органических соединений германия и их применение в комплексной терапии рака [11-14].

Соединения германия с гидроксиалкиламинами, содержащими трансаннулярную донорно-акцепторную связь N→Ge, широко известны как герматраны [2]. 1-Герматранол гидрат $[OHGe(OCH_2CH_2)_3N]\cdot H_2O$ является наиболее изученным представителем герматранов. Его синтез основан на простом взаимодействии диоксида германия с триэтаноламином в воде [15]. Многолетние исследования показали, что 1-герматранол гидрат стимулирует иммунную систему, может применяться для профилактики пародонтита, гингивита и кариеса, оказывает актопротекторное и аниоксидантное действие, активирует триптофанил-тРНК-синтетазу, интенсифицирует рост растений [16-20].

Цель настоящей работы заключалась в получении новых биологически активных аналогов герматранов с гидроксиалкиламинами, сульфо- и аминокислотами, содержащими гидроксиалкильные группы. Для синтеза новых соединений были выбраны следующие прекурсоры: трис(гидроксиметил)аминометан (TRIS), бис(2-гидроксиэтил)амино-трис(гидроксиметил)метан (BIS-TRIS), *N*-бензилэтаноламин (BEA), *N*-(2-гидроксиэтил)этилендиамин (HEED), *N,N,N'N'*-тетракис-(2-гидроксиэтил)этилендиамин (THEED), *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксипропил)этилендиамин (THPED), бис(2-гидроксиэтил)глицин (BICINE), *N*-(трис(гидроксиметил)метил)глицин (TRICINE), *N,N*-бис(2-гидроксиэтил)-2-аминоэтансульфоновая кислота (BES).

Гидроксиалкиламины широко востребованы в синтезе биологически активных соединений [21], металл-органических каркасных структур [22-26], наноразмерных частиц металлов [27-30], в составах защитных композиционных материалов [31-33] и др. Выбор данных соединений обусловлен еще и тем, что большинство из них относятся к малотоксичным буферам Гуда, широко используемым в биохимии и молекулярной биологии [34-36]. Их соли с протонными кислотами относятся к востребованному в научных и технических областях классу протонных ионных жидкостей. В частности, TRIS, BIS-TRIS, BEA и THEED соли с карбоновыми кислотами являются эффективными буферными агентами в реакциях ^{68}Ga-радиомечения биомолекул, используемых в синтезе радиофармпрепаратов [37-40].

Ранее нами было установлено, что взаимодействие оксида германия с THEED приводит к образованию шестикоординированного комплекса $[OHGe(OC_2H_4)_2NC_2H_4N(C_2H_4O)(C_2H_4OH)]\cdot 3H_2O$ [41]. В настоящей работе впервые представлены результаты *in vitro* исследования противовирусной активности 1-герматранол гидрата (**1**) и его новых структурных аналогов с гидроксиалкиламинами, сульфо- и аминокислотами **2-10** (рис. 1) в отношении штамма вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2).

Экспериментальная часть

*Синтез соединений **1-10***

1-Герматранол-гидрат (**1**) был синтезирован по известной методике [15,42] взаимодействием эквимолярных количеств TEA с GeO_2 в водном растворе. Продукт был выделен в виде бесцветных кристаллов с выходом 95 %.

Соединение **2** было получено аналогично соединению **1**, используя 1.07 г (8.9 ммоль) TRIS и 0.93 г (8.9 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка белого цвета с выходом 80 % (1.98 г). ИК-спектр[1], $см^{-1}$: 3231 (уш, оч.с), 2937 (с), 2865 (с), 2391 (сл), 2352 (сл), 2301 (сл), 2107 (сл), 1628 (с), 1592 (с), 1525 (сл), 1489 (ср), 1458 (с), 1386 (с), 1347 (сл), 1295 (сл), 1252 (ср), 1196 (сл), 1066 (оч.с.), 1020 (с), 976 (сл), 896 (сл), 860 (сл), 778 (уш, с), 675 (сл), 589 (ср), 492 (ср), 450 (ср), 425 (сл). Элементный анализ: рассчитано $C_4H_{17}GeNO_8$, %: C-17.17, H-6.12, N-5.01; найдено: C-18.05, H-6.39, N-4.88. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 1.12 т (2H, $^2J_{H\text{-}H}$=7.1, -C$\underline{H_2}$O), 3.58 м (4H, -OC$\underline{H_2}$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 16.80 (-$\underline{C}H_2$), 58.33 (-$\underline{C}NH_2$), 61.64 (-O$\underline{C}H_2$).

Соединение **3** получали аналогично соединению **1**, используя 1.41 г (6.7 ммоль) BIS-TRIS и 0.71 г (6.7 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка белого цвета с выходом 78 % (1.76 г). ИК-спектр, $см^{-1}$: 3375 (уш, оч.с), 3275 (уш, оч.с), 2991 (сл), 2973 (сл), 2947 (ср), 2885 (с), 2862 (с), 2708 (сл), 1633 (сл), 1486 (с), 1442 (с), 1384 (ср), 1358 (ср), 1306 (ср), 1262 (ср), 1226 (ср), 1196 (сл), 1167 (ср), 1144 (сл), 1079 (оч.с), 1040 (оч.с), 1022 (оч.с), 976 (с), 938 (ср), 927 (ср), 896 (с), 835 (ср), 745 (ср), 721 (сл), 685 (ср), 639 (оч.с), 618 (с), 589 (ср), 474 (сл), 449 (сл) 433 (ср), 417 (сл). Элементный анализ: рассчитано для $C_8H_{21}GeNO_8$, %: C-28.95, H-6.38, N-4.22; найдено: C-30.03, H-6.76, N-4.05. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 2.90 д (2H, $^2J_{H\text{-}H}$=6.5, -C$\underline{H_2}$O), 3.43 д (2H, $^2J_{H\text{-}H}$=5.8, -C$\underline{H_2}$O), 3.73 м (10H, OC$\underline{H_2}$, NC$\underline{H_2}$).^{13}C ЯМР спектр (D_2O, δ, м.д.): 48.28 (-$\underline{C}H_2$O), 57.89 (-N$\underline{C}H_2$), 58.96 (-O$\underline{C}H_2$), 66.25 (-$\underline{C}$N).

Соединение **4** получали аналогично соединению **1**, используя 0.110 г (0.73 ммоль) BEA и 0.076 г (0.73 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка белого цвета с выходом 76 % (0.19 г). ИК-спектр, $см^{-1}$: 3372 (уш, с), 3282 (уш, с), 3061 (с), 3027 (с), 2932 (с), 2844 (с), 2661 (ср), 1605 (с), 1497 (ср), 1453 (оч.с), 1412 (сл), 1361 (ср), 1260 (сл), 1211 (ср), 1156 (сл), 1074 (оч. с),

[1] Характеристики полос в ИК спектрах: уш – уширенная; оч.с – очень сильная; с -сильная, ср – средняя, сл – слабая.

1025 (сл), 1002 (сл), 896 (с), 860 (с), 780 (оч. с), 747 (оч. с), 696 (оч. с), 595 (ср), 482 (оч. с), 443 (оч. С), 412 (ср). Элементный анализ: рассчитано для $C_9H_{23}GeNO_8$, %: C-31.25, H-6.70, N-4.05; найдено: C-31.58, H-6.91, N-4.28. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 2.92 т (2H, -NC$\underline{H}_2$), 3.68 т (2H, -OC$\underline{H}_2$), 3.99 с (2H, -CH_2), 7.35 м (5H, -$C_6\underline{H}_5$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 48.63 (-$\underline{C}H_2$), 51.25 (-N$\underline{C}H_2$), 57.76 (-O$\underline{C}H_2$), 128.81-133.47 (-$\underline{C}_{Ar}$).

Соединение **5** получали аналогично соединению **1**, используя 0.100 г (0.96 ммоль) HEED и 0.101 г (0.96 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка желтого цвета с выходом 84 % (0.198 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3402 (уш, оч.с), 2935 (сл), 2887 (сл), 1629 (ср), 1587 (с), 1474 (с), 1410 (ср), 1324 (с), 1162 (сл.), 1121 (сл), 1060 (с), 928 (сл), 892 (ср), 777 (с), 743 (ср), 594 (сл), 490 (с), 447 (с). Элементный анализ: рассчитано для $C_4H_{16}GeN_2O_5$, %: C-19.62, H-6.59, N-11.44; найдено: C-20.05, H-7.07, N-11.62. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 2.61-3.55 м (6H, C$\underline{H}_2$O, C$\underline{H}_2$NH, C$\underline{H}_2$NH), 3.56-3.88 м (2H, C$\underline{H}_2NH_2$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 38.23 (-$\underline{C}H_2NH_2$), 46.75 (-$\underline{C}H_2$NH-), 49.65 (-NH$\underline{C}H_2OCH_2$-), 59.14 (-O$\underline{C}H_2$).

Соединение **6** получали аналогично соединению **1**, используя 0.226 г (0.96 ммоль) THEED и 0.100 г (0.96 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде бесцветных кристаллов с выходом 94 % (0.340 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3370 (уш, оч.с), 2950 (ср), 2863 (с), 2727 (сл), 2699 (сл), 2580 (сл), 2227 (ср), 1675 (с), 1629 (сл), 1598 (сл), 1467 (с), 1437 (с), 1374 (ср), 1307 (с), 1272 (ср), 1245 (ср), 1164 (сл), 1103 (оч.с), 1062 (оч.с), 1042 (с), 1008 (с), 941 (ср), 927 (с), 897 (ср), 874 (ср), 813 (ср), 747 (ср), 706 (сл), 634 (оч.с), 599 (с), 562 (с), 546 (ср), 519 (с), 437 (ср), 422 (ср). Элементный анализ: рассчитано для $C_{10}H_{28}GeN_2O_8$, %: C-31.86, H-7.49, N-7.43; найдено: C-31.52, H-7.73, N-7.29. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 2.73-3.45 м (12H, NC$\underline{H}_2$), 3.59-4.10 м (8H, C$\underline{H}_2$O). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 52.07, 53.90, 54.76 (-O$\underline{C}H_2$), 55.23, 56.85, 56.98 (N$\underline{C}H_2$), 57.34 (-$H_2\underline{C}$-$\underline{C}H_2$-), 58.31 (-N$\underline{C}H_2$-), 58.58 (-N$\underline{C}H_2$-), 60.63 (-$\underline{C}H_2$OH).

Соединение **7** получали аналогично соединению **1**, используя 0.100 г (0.34 ммоль) THPED и 0.036 г (0.34 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка белого цвета с выходом 93 % (0.138 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3402 (уш, оч.с), 2967 (оч.с), 2924 (с), 2868 (с), 2628 (ср), 1660 (ср), 1463 (с), 1374 (с), 1340 (ср), 1288 (сл), 1148 (оч.с), 1105 (ср), 1056 (оч.с), 983 (с), 938 (с), 861 (с), 641 (оч.с), 583 (сл), 557 (сл), 519 (сл), 474 (сл). Элементный анализ: рассчитано для $C_{14}H_{36}GeN_2O_8$, %: C-38.83, H-8.38, N-6.47; найдено: C-39.12, H-8.55, N-6.75. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 0.90-1.36 м (12H, C$\underline{H}_3$), 2.36-3.49 м (12H, NC$\underline{H}_2$), 3.59-4.44 м (4H, C$\underline{H}$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 20.40, 20.58, 21.49, 22.04 (-CH_3), 50.67, 53.04, 54.74 (-O$\underline{C}H_2$), 60.19, 60.89 (-N$\underline{C}H_2$), 62.78 (-$H_2\underline{C}$-$\underline{C}H_2$-), 63.08 (-N$\underline{C}H_2$-), 64.00, 64.49, 65.02 (-N$\underline{C}H_2$-), 67.09 (-$\underline{C}H_2$OH).

Соединение **8** получали аналогично соединению **1**, используя 0.120 г (0.74 ммоль) BICINE и 0.077 г (0.74 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка светло-розового цвета с выходом 91 % (0.20 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3424 (уш, оч.с), 3264 (уш, с), 3112 (ср), 2942 (ср), 2888

(ср), 1731 (оч.с), 1636 (оч.с), 1458 (ср), 1393 (ср), 1344 (с), 1268 (оч.с), 1164 (сл), 1087 (оч.с), 1056 (оч.с), 1015 (ср), 982 (сл), 925 (с), 899 (ср), 855 (оч.с), 752 (ср), 698 (сл), 659 (оч.с), 629 (оч.с), 585 (сл), 557 (сл), 499 (ср), 430 (сл). Элементный анализ: рассчитано для $C_6H_{17}GeNO_8$, %: C-23.72, H-5.64, N-4.61; найдено: C-24.17, H-6.02, N-4.85. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 3.36 т (4H, -NC$\underline{H}_2$), 3.79 с (2H, -C$\underline{H}_2$), 3.83 т (4H, -OC$\underline{H}_2$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 55.18 (-N$\underline{C}H_2$), 56.16 (-O$\underline{C}H_2$), 56.32 (-$\underline{C}H_2$), 170.26 (-$\underline{C}$=O).

Соединение **9** получали аналогично соединению **1**, используя 0.130 г (0.73 ммоль) TRICINE и 0.076 г (0.73 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка светло-розового цвета с выходом 77 % (0.17 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3411 (уш, оч.с), 2960 (ср), 2877 (ср), 2440 (сл), 1644 (оч.с), 1391 (с), 1347 (с), 1244 (сл), 1144 (сл), 1056 (оч.с.), 927 (ср), 845 (с), 745 (ср), 688 (сл), 644 (сл), 600 (с), 541 (ср), 492 (сл), 420 (сл). Элементный анализ: рассчитано для $C_6H_{15}GeNO_8$, %: C-23.88, H-5.01, N-4.64; найдено: C-24.36, H-5.61, N-4.83. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 3.61 с (2H, -NC$\underline{H}_2$), 3.68 с (6H, OC$\underline{H}_2$).^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 58.26 (-N$\underline{C}H_2$), 65.32 (-O$\underline{C}H_2$), 171.26 (-$\underline{C}$=O).

Соединение **10** получали аналогично соединению **1**, используя 0.100 г (0.47 ммоль) BES и 0.049 г (0.47 ммоль) GeO_2. Продукт был выделен в виде порошка белого цвета с выходом 93 % (0.14 г). ИК-спектр, см$^{-1}$: 3401 (уш, оч.с), 3048 (с), 3012 (сл), 2975 (ср), 2922 (ср), 2854 (ср), 2654 (сл), 1630 (сл), 1471 (с), 1437 (ср), 1417 (ср), 1388 (ср), 1332 (ср), 1298 (сл), 1244 (с), 1223 (с), 1205 (оч.с), 1159 (оч.с), 1090 (с), 1059 (с), 1033 (оч.с), 1012 (ср), 961 (ср), 889 (с), 866 (оч.с), 765 (ср), 737 (с), 647 (ср), 589 (с), 533 (с), 517 (с), 494 (ср), 415 (сл). Элементный анализ: рассчитано для $C_6H_{15}GeNO_7S$, %: C-22.67, H-4.76, N-4.41; найдено: C-23.10, H-5.12, N-4.78. ^{1}H ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д., J, Гц): 3.32 т (2H, C$\underline{H}_2$), 3.41 т (4H, NC$\underline{H}_2$), 3.67 т (2H, C$\underline{H}_2$S), 3.89 т (4H, OC$\underline{H}_2$). ^{13}C ЯМР-спектр (D_2O, δ, м.д.): 44.51 (-$\underline{C}H_2$), 49.97 (-$\underline{C}H_2$S), 55.06 (-N$\underline{C}H_2$), 55.41 (-O$\underline{C}H_2$).

Материалы и методы

Реагенты для синтеза соединений **1-10** были приобретены у следующих компаний: Sigma-Aldrich (BIS-TRIS, BEA, HEED, THPED, BES, BICINE, TRICINE и BIS-TRIS), ThermoScientific (THEED) и АО «Вектон» (GeO_2, TEA и TRIS). Реагенты имели аналитическую чистоту и использовались без дополнительной очистки.

Элементный анализ на азот, углерод и водород был выполнен на элементном анализаторе EuroEA3028-HT («EuroVector», Италия) методом сжигания образца в токе кислорода. Процентное содержание воды в образцах было измерено на кулонометрическом титраторе Фишера «ПЭ-9210» (ячейка с диафрагмой) («Экросхим», РФ). ИК спектры были сняты в таблетках KBr на ИК Фурье-спектрометре «ФСМ 2201» («Инфраспек», РФ) в спектральной области 4000-500 см$^{-1}$. ^{1}H, ^{13}C ЯМР спектры были сняты в растворах D_2O на спектрометре BrukerAvance III [400.13 (^{1}H), 100.613

МГц (^{13}C)]. Химические сдвиги были измерены относительно остаточных сигналов воды (4.79 м.д. для ^{1}H) [43].

In vitro эксперимент

Для определения вирусной нагрузки использована клеточная культура почки спаниеля MDCK (Madin-Darby canine kidney), как наиболее чувствительная и пермиссивная в отношении различных вирусов гриппа человека. Клеточная линия MDCK London Line (пассаж 8/8) получена из Influenza Reagent Resource, CDC&P, Atlanta, Georgia, США (кат. № FR-58). После получения: проведен один пассаж клеточной культуры с целью ее восстановления и создания коллекционного банка. Проведен второй пассаж культуры для создания рабочего банка. Клетки были размморожены из криопробирки и использовались на пассажном уровне 3.

На 100 мл среды DMEM (питательная среда DMEM с глутамином, Биолот, СПб, РФ) вносили 1 мл раствора антибиотиков (ципрофлоксацин, Синтез, Курган) и 0.1 мл раствора ТРСК-трипсина (конечная концентрация в среде 4 мкг/мл).

Вирус гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, накоплен в куриных эмбрионах.

Вирус гриппа после адаптации был размножен в аллантоисной полости 10-дневных развивающихся куриных эмбрионов, после чего жидкость была собрана, осветлена при помощи центрифугирования и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока аллантоисной жидкости и одномоментно заморожены при -80°С.

Статистический анализ проводили с использованием программного пакета GraphPadPrism и Microsoft Office Excel. Для анализа противовирусной активности соединений применяли метод нелинейной регрессии и определяли насколько выбранные концентрации тестируемого препарата снижали титр вируса в клетках. На основании этих данных производили расчет эффективной концентрации препарата, которая снижает титр вируса на 50% (EC_{50}).

Для характеристики перспективности соединений использовали показатель ХТИ (химиотерапевтический индекс), который определяется как отношение $ЦТД_{50}$ (доза в лунке, при которой погибает 50% клеток) к EC_{50}. Дополнительным критерием противовирусной активности являлось снижение титра вируса в наименьшей нетоксичной концентрации препарата на $2lgТИД_{50}$ (50% тканевых инфекционных дозах) и более.

*Дизайн эксперимента по определению цитотоксичности соединений **1-10***

Соединения в количестве 2 мг растворяли в 100 мкл ДМСО. Далее доводили полученный раствор средой до концентрации 1000 мкг/мл и готовили из него серию 2-кратных разведений.

Односуточную культуру клеток MDCK, выращенную на 96-луночных планшетах (концентрация клеток $6 \cdot 10^5$/лунку планшета) проверяли визуально в инвертированном

микроскопе на целостность монослоя. В работу отбирали планшеты, где сомкнутость клеток составляла ≥95%. Планшеты двукратно отмывали теплой средой ДМЕМ, не содержащей сыворотки, после чего на клетки монослоя в планшете вносили разведения препаратов в соответствующей концентрации в объеме 100 мкл в каждую лунку в 2 повторах на каждую тестируемую концентрацию. Планшеты инкубировали 3 суток при температуре 37°С в присутствии 5% CO_2.

Оценка жизнеспособности клеток велась при помощи микротетразолиевого теста (МТТ). МТТ-тест основан на восстановлении МТТ (желтый водорастворимый тетразолиевый краситель) под действием дегидрогеназ живых клеток с образованием голубых кристаллов формазана, количество которого измеряется спектрофотометрически. Раствор МТТ готовили в физиологическом растворе в концентрации 0.5 мг/мл. Перед внесением раствора МТТ клетки промывали 0.1 мл физиологического раствора. Далее вносили 0.1 мл раствора МТТ в каждую лунку. После 1.5 часа контакта МТТ при 37°С при концентрации CO_2 5 % с клетками лунки промывали и заливали 0.1 мл этилового спирта 96%, после чего оптическую плотность в лунках измеряли на планшетном ридере при длине волны 535 нм.

Основываясь на полученных данных, рассчитывали $ЦТД_{50}$, то есть дозу препарата в лунке, при которой погибает 50% клеток.

*Дизайн эксперимента по оценке противовирусной активности соединений **1-10** in vitro на культуре клеток*

Готовили серию трехкратных разведений соединений **1-10** на поддерживающей среде и наносили на культуру клеток в объеме 100 мкл, после чего инкубировали в течение 1 ч. в темноте в CO_2-инкубаторе при 37°С и 5 % CO_2, далее добавляли серию 10-кратных разведений вируса и инкубировали в течение 3 суток в CO_2-инкубаторе при 37°С и 5 % CO_2. После инкубации культуральную среду отбирали и определяли в ней количество вируса с помощью реакции гемагглютинации, для чего культуральную среду переносили в соответствующие лунки иммунологических планшетов с U-образным дном и добавляли равный объем 1% суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе. По истечении 40 минут визуально оценивали наличие или отсутствие гемагглютинации в лунках. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах ($ТИД_{50}$) на 100 мкл объёма [44]. Противовирусную активность оценивали по снижению титра вируса в опыте по сравнению с контролем.

Результаты и обсуждение

В результате одностадийной реакции GeO_2 с гидроксиалкиламинами, сульфо- и аминокислотами были синтезированы девять новых аналогов (**2-10**) 1-герматранол-гидрата (**1**), строение которых представлено на рисунке 1. Элементный анализ и анализ содержания H_2O по К. Фишеру свидетельствует, что синтезированные соединения выделены в виде кристаллогидратов, как и соединение **1**. ИК спектры соединений **2-10** были исследованы в интервале длин волн 4000-500 $см^{-1}$. Уширенные и интенсивные полосы в области 3500-3200 $см^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям ν(OH) групп, связанных с атомом германия, OH групп гидроксиалкиламинов (некоординированных) и молекул воды. В этой области также проявляются валентные колебания N-H связей, которые содержат соединения **2**, **4** и **5**. Группа полос в области 3000-2700 $см^{-1}$ соответствует валентным колебаниям C-H связей. В случае соединения **4** валентные колебания C_{Ar}-H ароматического кольца проявляются в более высокочастотной области 3100-3000 $см^{-1}$. Полосы в области 1675-1590 $см^{-1}$, присутствующие во всех ИК спектрах, относятся к деформационным колебаниям δ(OH) групп. В случае соединений **2**, **4** и **5** в этой области также проявляются полосы, связанные с деформационными колебаниями $\delta(NH_2)$ и δ(NH) групп. В случае соединений **8** и **9** валентные колебания ν(COO) групп проявляются в виде очень интенсивных полос в области 1730-1630 $см^{-1}$. Валентные колебания ν(S=O) групп соединения **10** проявляются в виде группы полос высокой интенсивности в области 1210-1160 и 890-860 $см^{-1}$. В целом, полосы в ИК спектрах соединений **2-10** хорошо согласуются со спектральными данными герматранов [45-47]. Во всех исследуемых ИК спектрах наблюдаются полосы в области 1525-1200 $см^{-1}$, связанные с колебаниями δ(C-H), ρ(C-H) и ω(C-H) групп. Интенсивные полосы в области 1100-1000 $см^{-1}$ относятся к валентным колебаниям связей O–C, N–C и C–C. Валентные колебания связей Ge–O проявляются в спектральном диапазоне 700-630 (ν_{as}) и 595-520 (ν_s) $см^{-1}$ в виде полос сильной и средней интенсивности.

Как известно [2], в ^{1}H ЯМР спектре сигналы герматранового остова $N(CH_2CH_2O)_3GeX$ проявляются в виде двух уширенных триплетов. Так, в ^{1}H ЯМР спектре 1-герматранол гидрата проявляются два триплета в области 3.0 и 3.8 м.д. При переходе к соединениям **2-10** вид спектров существенно изменяется из-за наличия дополнительных гидроксиалкильных или функциональных (CO_2, SO_3) групп. Так, в спектре соединения **4** появляются дополнительные сигналы в области 4.0 и 7.3 м.д., соответствующих группе $CH_2C_6H_5$. В случае соединений **2**, **3**, **5-7** сигналы герматранового остова проявляются в виде сложных мультиплетов. В спектрах **8** и **10** фрагмент $N(CH_2CH_2O)_2Ge$ также проявляется в виде двух триплетов, но с дополнительными сигналами в виде синглета от CH_2CO_2 группы (соединение **8**) и двух триплетов фрагмента $NCH_2CH_2SO_3$ (соединение **10**). В случае соединения **9** наблюдаются два уширенных синглета в области 3.6 (CH_2CO_2) и 3.7 (CCH_2O) м.д. Если сравнить ^{1}H ЯМР спектры соединений **1-10** со

спектрами исходных гидроксиалкиламинов, то можно отметить небольшой слабопольный сдвиг сигналов протонов и повышение их мультиплетности, обусловленные дополнительным спин-спиновым взаимодействием ^{1}H-^{73}Ge.

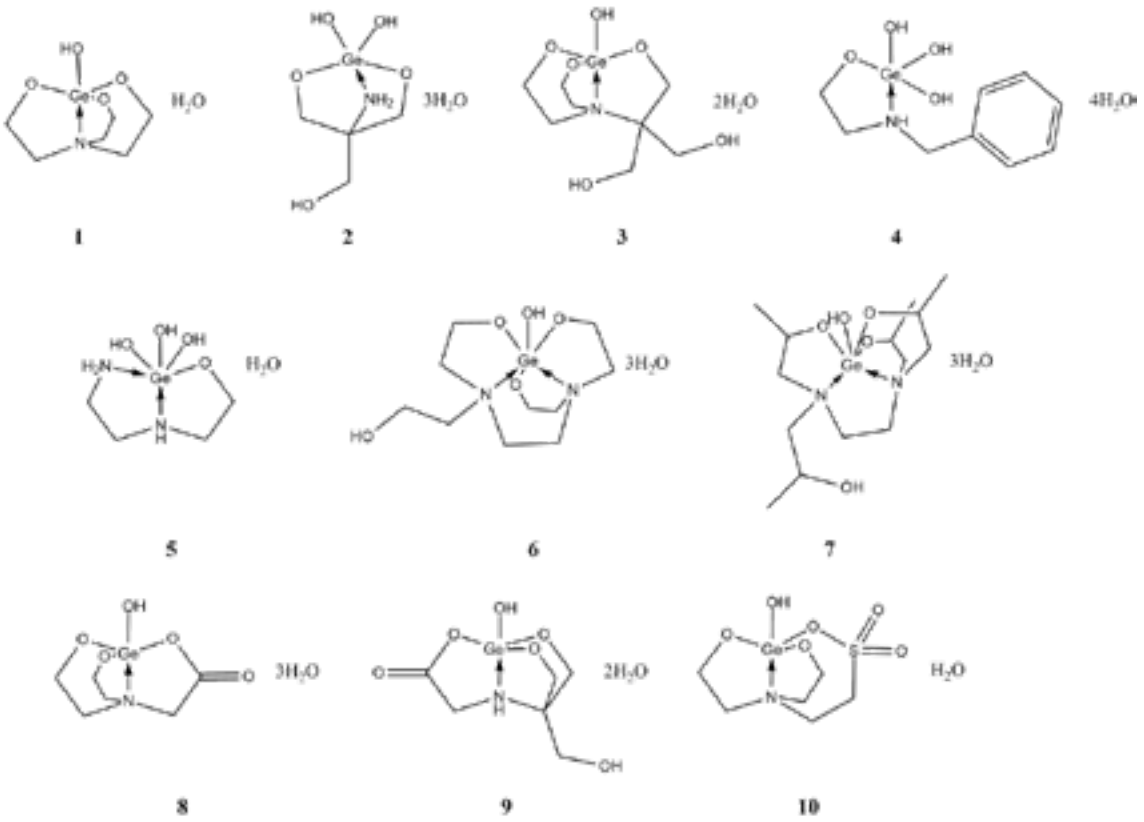


Рисунок 1. Строение соединений **1–10**

PASS анализ был использован для оценки спектра фармакологической активности соединений **1-10**. Как и ожидалось, для 1-герматранола гидрата предсказан широкий профиль биологической активности (с вероятностью >0.7): лечение аутоиммунных заболеваний, функциональных заболеваний органов пищеварения, тревожно-фобических расстройств, обезболивающее действие, противовирусная активность (гепатит В). Экспериментальные данные подтверждают, что 1-герматранол гидрат является перспективным в качестве лекарственного средства, обладающего адаптогенной и иммуномодулирующей активностью [16]. Анализ соединений **2-10** показал, что большинство также будут эффективны в лечении аутоиммунных заболеваний и тревожно-фобических расстройств и будут обладать антигипоксической активностью (с вероятностью >0.7). Для соединений **4** и **5** предсказана противовирусная активность (гепатит В), как и для соединения **1**.

На следующем этапе был проведен *in vitro* первичный скрининг (табл. 4) противовирусной активности соединений **1-10** в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2). Данный штамм широко используется при оценке защитной эффективности лекарственных средств и иммунобиологических препаратов [48,49].

Как следует из полученных данных, большинство исследуемых соединений, включая 1-герматранол гидрат, проявили слабую противовирусную активность. В частности, значения ХТИ для соединений **1**, **3**, **5-8** и **10** варьировались в диапазоне 1.05-2.10. Следует отметить, что если препарат имеет ХТИ <1, то это практически неактивное вещество в отношении вируса. Однако в ряду синтезированных комплексов противовирусная активность соединений **2**, **4** и **9** оказалась существенно выше (табл. 4). Следует также отметить, что соединения **2** и **9** являются производными трис(гидроксиметил)аминометана, координационные и органические соединения которого обладают широким спектром биологической активности [50-53]. При этом ХТИ двух соединений **2** и **4** оказался наиболее близким к пороговому значению 8, соответствующего высокой противовирусной активности.

Таблица 1. Противовирусная активность соединений **1-10** в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) *in vitro*

№	$ЦТД_{50}$, мкг/мл	$ЕС_{50}$, мкг/мл	ХТИ	Снижение титра вируса в макс.дозе, $lgТИД_{50}$
1	597.1	>500	1.19	0
2	867.9	132	6.58	1
3	371.5	354	1.05	0
4	547.3	87.6	6.25	1
5	579.7	523	1.11	0.5
6	571.6	>500	1.14	0
7	556.2	265	2.10	0.5
8	566.6	>500	1.13	0
9	551.9	124	4.45	0.5
10	531.8	>500	1.06	0

Заключение

Синтезирована серия координационных соединений германия с гидроксиалкиламинами, амино- и сульфокислотами, содержащими гидроксиалкильные группы. *In silico* анализ показал, что все соединения являются потенциально перорально активными, водорастворимыми веществами с широким спектром фармакологической активности. *In vitro* эксперимент продемонстрировал эффективность двух соединений – гидроксикомплексов германия с TRIS (**2**) и BEA (**4**) в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2).

ЛИТЕРАТУРА

1) *Ребров В.Г., Громова О.А.* Витамины и микроэлементы. Москва, 2003, 648 с.

2) *Карлов С.С., Зайцева Г.С.* // ХГС. 2001. № 11. С. 1451. [*Karlov S.S., Zaitseva G.S.* // Chem. Heterocycl. Compd. 2001. V. 37. P. 1325. https://doi.org/10.1023/A:1017942932503]

3) *Lukevics E., Ignatovich L.* Biological Activity of Organogermanium Compounds. In PATAI'S Chemistry of Functional Groups, Z. Rappoport (Ed.), 2009. https://doi.org/10.1002/9780470682531.pat0275

4) *Lukevics E., Ignatovich L., Shul'ga T. et al.* // J. Organomet. Chem. 2002. V. 659. P. 165. https://doi.org/10.1016/S0022-328X(02)01723-0

5) *Mertens R.T., Parkin S., Awuah S.G.* // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 503. No. 119375. https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119375

6) *Nikolaevskaya E.N., Shangin P.G., Starikova A.A. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2019. V. 495. No. 119007. https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119007

7) *Pi J., Zeng J., Luo J.-J. et al.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013. V. 23. P. 2902. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.03.061

8) *Vishtorskaya A.A., Saverina E.A., Pechennikov V.M. et al.* // J. Organomet. Chem. 2018. V. 858. P. 8. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.01.004

9) *Nabiyeva T., Roufosse B., Odachowski M. et al.* // ACS Omega. 2021. V. 6. P. 19252. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02665

10) *Кадомцева А.В., Мочалов Г.М., Кузина О.В.* // ЖОрХ. 2021. Т. 57. № 6. С. 788. https://doi.org/10.31857/S0514749221060021 [*Kadomtseva A.V., Mochalov G.M., Kuzina O.V.* // Russ. J. Org. Chem. 2021. V. 57. P. 879. https://doi.org/10.1134/S1070428021060026]

11) *Менчиков Л.Г., Шестов А.А., Попов А.В.* // Успехи биологической химии. 2023. Т. 63. С. 3. [*Menchikov L.G., Shestov A.A., Popov A.V.* // Biochemistry Moscow. 2023. V. 88 (Suppl 1). P. S1. https://doi.org/10.1134/S0006297923140018]

12) *Awais M., Aizaz A., Nazneen A. et al.* // Prosthesis. 2022. V. 4. P. 263. https://doi.org/10.3390/prosthesis4020026.

13) *Cho J.M., Chae J., Jeong S.R. et al.* // PLOS ONE. 2020. V. 15. No. e0240358. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240358.

14) *Менчиков Л.Г., Игнатенко М.А.* // Хим.-фарм. журн. 2012. Т. 46. № 11. С. 3. [*Menchikov L.G., Ignatenko M.A.* // Pharm. Chem. J. 2013. V. 46. P. 635. https://doi.org/10.1007/s11094-013-0860-2]

15) *Воронков М.Г. Овчинникова З.А., Барышок В.П.* // Изв. АН. СССР. Сер. Химия. 1987. Т. 4. С.880.

16) *Барышок В.П., Абзаева К.А., Расулов М.М. и др.* // Изв. вузов. Прикл. химия и биотехнология.2018. Т. 8. № 1. С. 153. https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-153-158

17) *Расулов М.М., Стороженко П.А., Снисаренко Т.А. и др.* // Пат. № 2553986 С1. Опубл. 20.06.2015. Бюл. № 17.

18) *Шигарова А.М., Грабельных О.И., В. П. Барышок В. П и др.* // Прикл. биохим. и микробиол. 2016. Т. 52. № 4. С. 410. [*Shigarova, A.M., Grabelnych, O.I., Baryshok, V.P. et al.* // Appl. Biochem. Microbiol. 2016. V. 52. P. 429. https://doi.org/10.1134/S0003683816040153] https://doi.org/10.7868/S0555109916040152

19) *Рачин А.П., Расулов Р.М., Барышок В.П. и др.* // Пат. № 2741229 С1. Опубл. 22.01.2021. Бюл. №3.

20) *Исаев А.Д., Башкирова С.А., Павлов К.В.* // Пат. № 2272624 С1. Опубл. 27.03.2006. Бюл. № 9.

21) *Кондратенко Ю.А., Кочина Т.А.* // ЖОХ. 2021. Т. 91. № 12. С. 1807. [*Kondratenko Yu. A., Kochina T.A.* // Russ. J. Gen. Chem. 2021. V. 91. P. 2331. https://doi.org/10.1134/S107036322112001X] https://doi.org/10.31857/S0044460X21120015

22) *Akhtar M.N., Chen Y.C., AlDamen M.A.* // Dalton Trans. 2017. V. 46. P. 116. https://doi.org/10.1039/C6DT03843C

23) *Kondratenko Y.A., Zavyalova D.A., Arsentev M.Y. et al.* // Cryst. Growth Des. 2022. V. 22. P. 6886. https://doi.org/10.1021/acs.cgd.2c00331

24) *Завьялова Д.А., Кондратенко Ю.А., Золотарев А.А., и др.* // Коорд. химия. 2023. Т. 49. № 8. С. 474. [*Zav'yalova D.A., Kondratenko Yu.A., Zolotarev A.A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2023. V. 49. P. 486. https://doi.org/10.1134/S1070328423600389] https://doi.org/10.31857/S0132344X22600655

25) *Karabach Y.Y., Kirillov A.M., Haukka M. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2008. V. 102. P. 1190. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.11.007

26) *Qin X., Dong Y., Wang M. et al.* // ACS Sens. 2019. V. 4. P. 2351. https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00914

27) *Qin X., Gu C., Minghan Wang M. et al.* // Anal. Chem. 2018. V. 90. P. 2826. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04952

28) *Jia Z., Sun H., Gu Q.* // Colloids Surf. A. 2013. V. 419. P. 174. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.12.003

29) *Симоненко Т.Л., Симоненко Н.П., Горобцов Ф.Ю. и др.* // ЖНХ. 2022. Т. 67. № 5. С. 575. [*Simonenko T.L., Simonenko N.P., Gorobtsov P.Y. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2022. V. 67. P. 622. https://doi.org/10.1134/S0036023622050175] https://doi.org/10.31857/S0044457X22050178

30) *Al-Hadeethi Y., Mkawi E.M., Al-Hartomy O., et al.* // Int. J. Energy Res. 2022. V. 46. P. 7239. https://doi.org/10.1002/er.7632

31) *Шилова О.А., Халаман В.В., Комендантов А.Ю. и др.* // ФХС. 2021. Т. 47. № 2. С. 209. [*Shilova O.A., Khalaman V.V., Komendantov A.Y. et al.* // Glass Phys. Chem. 2020. V. 46. P. 620. https://doi.org/10.1134/S1087659620060243] https://doi.org/10.31857/S0132665120060244.

32) *Кондратенко Ю.А., Голубева Н.К., Кочина Т.А. и др.* // ФХС. 2023. 2023. Т. 49. № 1. С. 80. [*Kondratenko Y.A., Golubeva N.K., Kochina T.A. et al.* // Glass Phys. Chem. 2023. V. 49. P. 69. https://doi.org/10.1134/S1087659622600818] https://doi.org/10.31857/S0132665122600509

33) *Hang M., Zhou X., Wang J. et al.* // Case Stud. Constr. Mater. 2023. V. 18. N. e01907. https://doi.org/10.1016/j.cscm.2023.e01907

34) *Good N.E., G. Winget G.D., Winter W. et al.* // Biochemistry. 1966. V. 5. P. 467. https://doi.org/10.1021/bi00866a011

35) *Pannuru P., Rani A., Venkatesu P., Lee M.-J. et al.* // Int. J. Biol. Macromol. 2018. V. 112. P. 720. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.203

36) *Taha M, e Silva F.A., Quental M.V. et al.* // Green Chem. 2014. V. 16. P. 3149. https://doi.org/10.1039/C4GC00328D

37) *Antuganov D., Nadporojskii M., Sysoev D. et al.* // ChemistrySelect. 2020. V. 5. P. 10953. https://doi.org/10.1002/slct.202002891

38) *Kondratenko Y.A., Antuganov D.O., Zolotarev A.A. et al.* // ChemistrySelect. 2022. V. 7. No. e202200660. https://doi.org/10.1002/slct.202200660

39) *Kondratenko Y.A., Shilova J.S., V. A. Gavrilov V.A. et al.* // Pharmaceutics. 2023. V. 15. No. 694. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020694

40) *Kondratenko Y.A., Makovskaya O.N., Antuganov D.O. et al.* // J. Mol. Liq. 2022. V. 363. No. 119891. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119891

41) *Kondratenko Y.A., Ignatyev I.S., Lezov D.V. et al.* // J. Organomet. Chem. 2022. V. 958. No. 122188. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.122188

42) *Миронов В.Ф., Гар Т.К., Хромова Н.Ю. и др.* // Ж. общ. химии. 1986. Т. 56. № 3. С. 638.

43) *Gotltieb H.E., Kotlyar V., Nudelman A.* // J. Org. Chem. 1997. V. 62. P. 7512. https://doi.org/10.1021/jo971176v

44) *Reed L.J., Muench H.* // Am. J. Epidemiol. 1938. V.27. P. 493.

45) *Ignatyev I.S., Sundius T.* // Spectrochim. Acta A. 2012. V. 95. P. 37. http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.04.037

46) *Игнатьев И.С., Воронков М.Г., Кочина Т.А. и др.* // ЖСХ. 2014. Т. 55. № 3. С. 462. [*Ignat'ev I.S., Voronkov M.G. Kochina T.A. et al.* // J. Struct. Chem. 2014. V. 55. No. 3. P. 431. http://dx.doi.org/10.1134/S0022476614030068]

47) *Glowacki B., Lutter M., Hiller W. et al.* // Inorg. Chem. 2019. V. 58. P. 4244. https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b03312

48) *Bazhan S., Antonets D., Starostina E. et al.* // Vaccines. 2020. V. 8. No. 448. https://doi.org/10.3390/vaccines8030448

49) *Wu W., Li R., Li X. et al.* // Viruses. 2016. V. 8. No. 6. https://doi.org/10.3390/v8010006

50) *Lee S.M., Sim K.S., Lo K.M.* // Inorg. Chim. Acta. 2015. V. 429. P. 195. https://doi.org/10.1016/j.ica.2015.01.017

51) *Varga G., Lajkó N., Ugocsai M. et al.* // Eur. J. Pharmacol. 2016. V. 781. P. 181. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.04.019

52) *Bhattacharya A., Chattopadhyay B., Chakraborty S. et al.* // J. Pharm. Biomed. Anal. 2012. V. 70. P. 280. http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2012.07.011

53) *Kondratenko Y.A., Nikonorova A.A., Zolotarev A.A. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2022. V. 530. No. 120705. https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120705

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ЛИГАНДОВ ТРАНСЛОКАТОРНОГО БЕЛКА TSPO В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛО[1,2-А]ПИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ НЕЙРОПСИХОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Г.В. Мокров, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

Транслокаторный белок 18 кДа (TSPO) рассматривается в современных исследованиях как перспективная биомишень для создания эффективных и безопасных нейропсихотропных средств, обладающих существенным превосходством над бензодиазепинами, фармакотерапия которыми отягощается нарушениями памяти, зависимостью, синдромом отмены, атаксией, миорелаксацией и седацией [1].

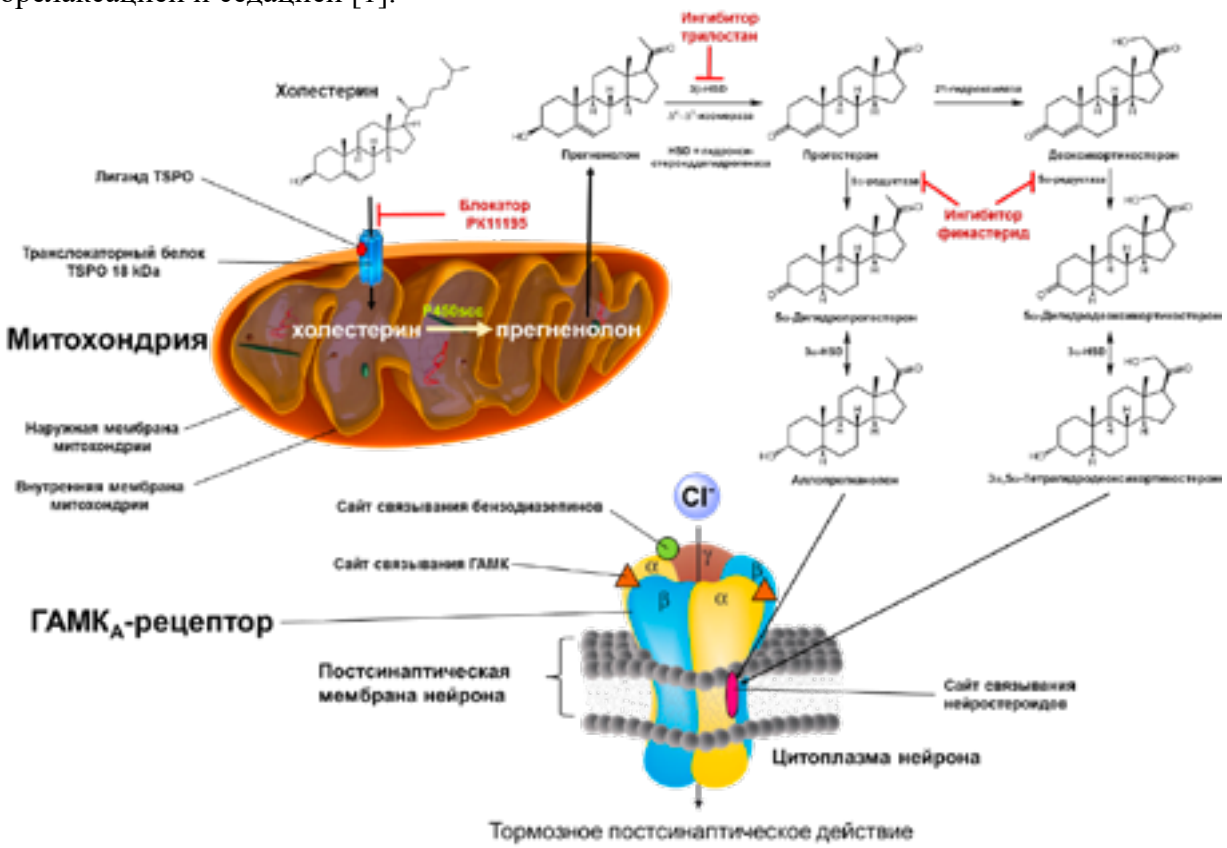


Рисунок 1. TSPO-опосредованный нейростероидогенез и воздействие нейростероидов на ГАМК$_A$-рецптор

TSPO – белок-переносчик с массой 18 кДа, который расположен на мембране митохондрий клеток нервной системы, продуцирующих нейростероиды. TSPO обеспечивает транспорт молекул холестерина к внутренней мембране митохондрий, что является лимитирующим этапом нейростероидогенеза. Нейростероиды являются эндогенными положительными аллостерическими модуляторами ГАМК$_A$-рецептора с собственным сайтом

связывания (рис. 1). Модулируя действие $ГАМК_A$-рецептора, нейростероиды вызывают быстрые анксиолитические и другие нейропсихотропные эффекты без побочного действия. Например, аллопрегнанолон обладает анксиолитическим, антидепрессивным, противосудорожным действием, нейропротективной активностью, предотвращает нарушение памяти [2].

Ввиду метаболической нестабильности эндогенных нейростероидов их применение в медицинской практике затруднено. В то же время лигандная модуляции белка TSPO может позволить эффективно использовать физиологический потенциал нейростероидных гормонов.

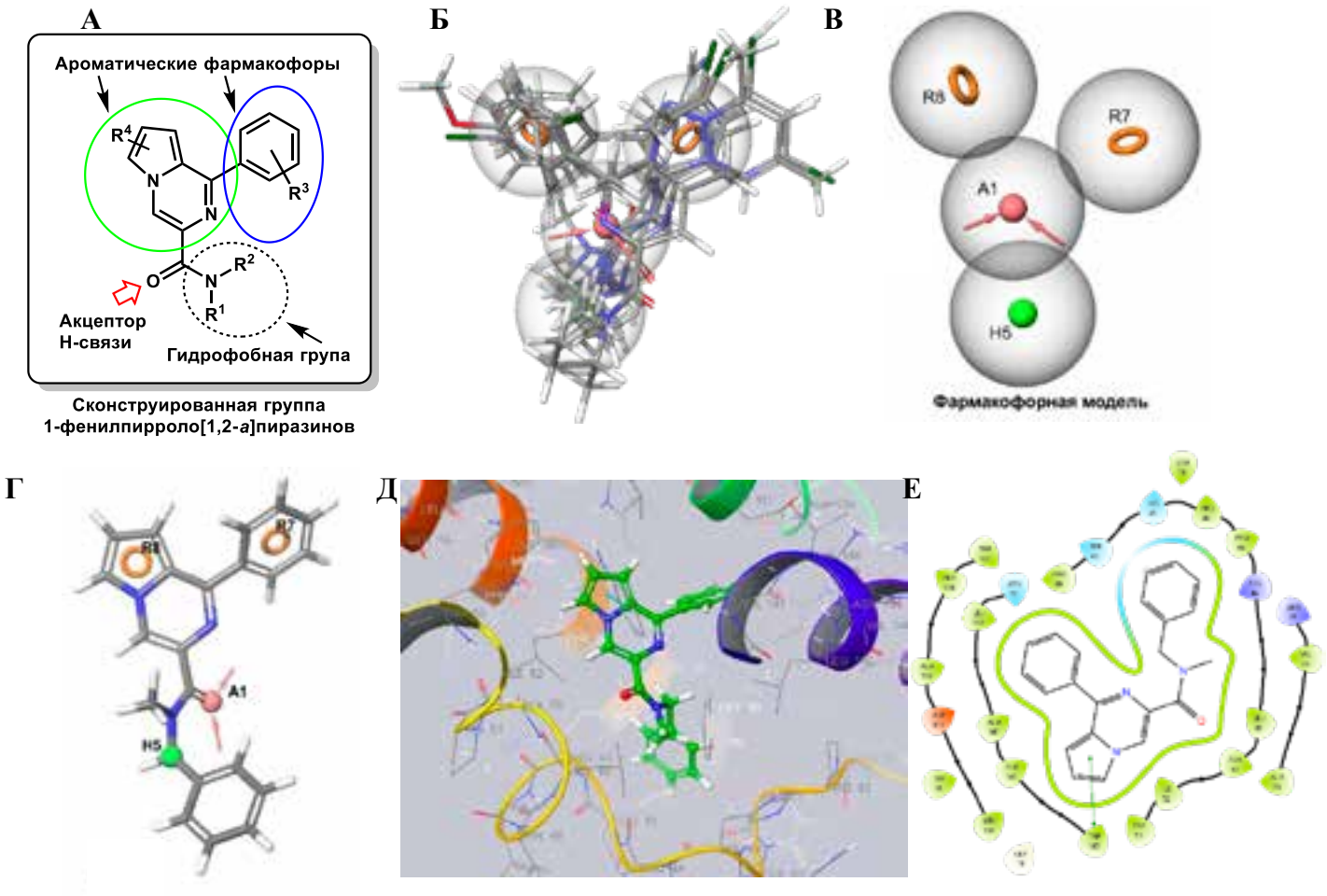


Рисунок 2. Дизайн новых лигандов TSPO. (А) Соответствие сконструированной группы фармакофорной модели лигандов TSPO. (Б-В) Расчетная 3D-фармакофорная модель лигандов TSPO на базе известных соединений. (Г) Соответствие одного из сконструированных соединений расчетной фармакофорной модели. (Д-Е) Молекулярный докинг соединения ГМЛ-1 в сайт связывания TSPO в 3D- и 2D-проекциях.

Нами конструирование новой группы потенциальных лигандов TSPO осуществлялось на базе пирроло[1,2-*a*]пиразинового гетероциклического ядра [3]. При этом отбор целевых молекул проводился с использованием следующих критериев: (1) наличие всех необходимых фармакофоров TSPO-лигандов (две ароматические группы, донор пары электронов и

липофильная группа) (рис. 2А); (2) соответствие соединений расчетной фармакофорной модели лигандов TSPO (рис. 2В, на рис. 2Г – пример соответствия модели одного из соединений), сгенерированной в программе Phase Schrödinger с использованием базы данных известных лигандов (рис. 2Б); (2) высокие значения теоретической аффинности соединений, вычисленные с использованием метода молекулярного докинга (Glide, Schrödinger) и доступной 3D-структуры TSPO (PDB ID: 2MGY) (на рис. 2Д и 2Е – пример докинга соединения ГМЛ-1); (3) благоприятный профиль расчетных ADMET-показателей (QikProp, Schrödinger; ADMETlab 2.0). С учетом перечисленных критериев нами была предложена группа 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **1**, в которой для синтеза были отобраны соединения, указанные в таблице 1 [3–5].

Синтез сконструированных соединений **1** осуществлялся двумя путями в соответствии со схемой на рисунке 3 [3–5]. В обоих случаях ключевой стадией была реакция [3+3]-циклоприсоединения амидов (**6**) или эфиров (**9**) 2-азидоакриловой кислоты к пирроларилкетонам (**7**), протекающая в присутствии карбоната цезия. Целевые пирроло[1,2-a]пиразины **1** получались сразу при использования в этой реакции амидов **6**. Во второй схеме взаимодействие пирролоарилкетонов (**7**) с эфиром 2-азидоакриловой кислоты (**9**) давало эфиры кислот **10**, которые без выделения гидролизовались действием щелочи в сами кислоты **10**. При взаимодействии кислот **10** с аминами **3** в присутствии конденсирующих агентов образуются конечные амиды **1**. Азидоамиды **6** были синтезированы в три стадии из акрилоилхлорида **2**. Сначала его реакцией с аминами **3** получались амиды **4**, которые затем бромировали в дибромиды **5**. Последние при действии азида натрия превращались в 2-азидоакриламиды **6**. Эфир 2-азидоакриловой кислоты (**9**) получали реакцией эфира дибромпропановой кислоты **8** с азидом натрия. Галоген-замещенные пирролфенилкетоны **7** синтезировали реакцией Гриньяра из пиррола и хлорангидридов галогенбензойных кислот.

С использованием указанных схем была получена библиотека из отобранных соединений (таблица 1). Для всех полученных веществ был осуществлен скрининг на анксиолитическую активность на животных моделях. *In vivo* эксперименты были осуществлены в тестах «открытое поле» (мыши линии Balb/c, внутрибрюшинное (в/б) введение) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (мыши ICR, в/б введение) в условиях эмоционально-стрессового воздействия (таблица 1) [3–6]. По результатам этого скрининга были выявлены активные вещества, не уступавшие по своей активности в дозах 0,05-5,0 мг/кг диазепаму (1 мг/кг), использовавшемуся в качестве препарата сравнения. Также были определены следующие общие закономерности: (1) в амидной группе предпочтительнее использование объемных и липофильных заместителей, обеспечивающих высокие расчетные значения LogP и LogBB; (2) результаты молекулярного докинга имеют хорошую корреляцию с *in vivo* активностью: активные молекулы имеют

наибольшие значения теоретической аффинности. На основании скрининговых исследований было установлено, что наиболее активными соединениями являются ГМЛ-1 и ГМЛ-3, которые далее исследовались более подробно.

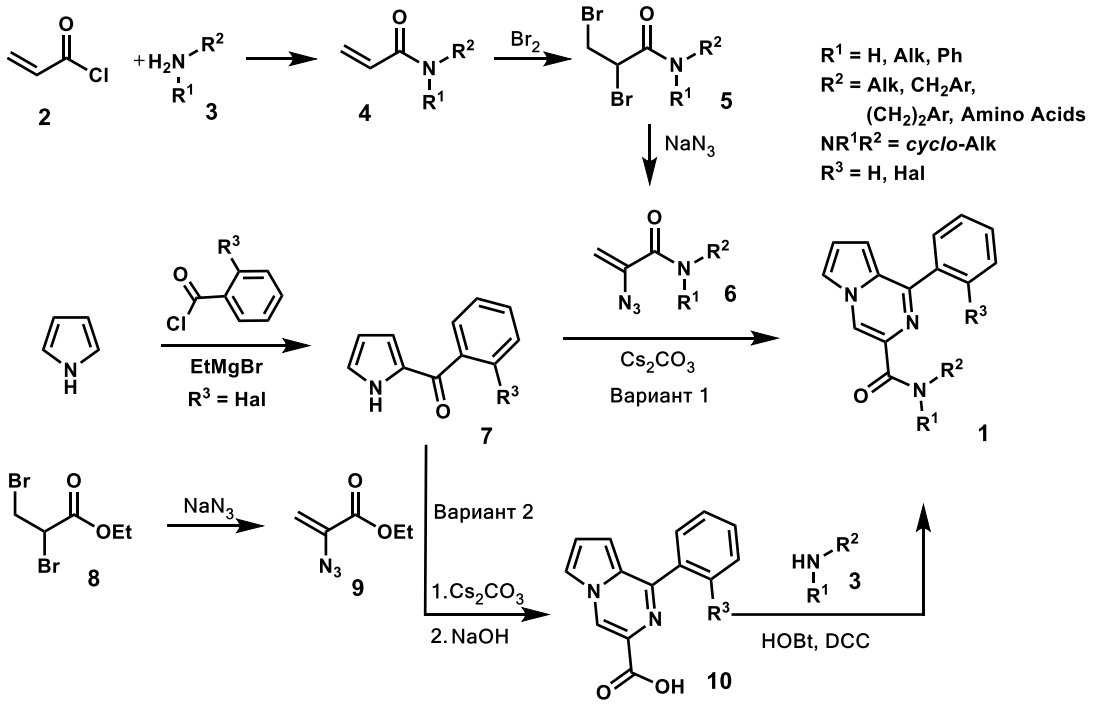


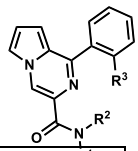
Рисунок 3. Синтез лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-а]пиразина

Для соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 была исследована антидепрессивная активность при субхроническом в/б введении (5 дней) в дозе 0,5 мг/кг. Установлено, что в этих условиях оба вещества ГМЛ-1 и ГМЛ-3 значимо уменьшали время неподвижности мышей в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой. Антидепрессивный эффект соединений оказался сопоставимым с активностью препарата сравнения амитриптилина (7 мг/кг) [7].

Для соединения ГМЛ-1 была проанализирована ноотропная активность в тесте «распознавание нового объекта». Показано, что в дозах 0,05-0,5 мг/кг (в/б) ГМЛ-1 статистически значимо противодействовал скополаминовой амнезии в этом тесте на беспородных крысах-самцах, увеличивая коэффициента дискриминации почти до контрольных значений [7]. Наличие ноотропного эффекта у ГМЛ-1 выгодно отличает этот препарат от бензодиазепинов, так как для последних известно их негативное влияние на память. В модели окислительного стресса соединения ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в интервалах концентраций 10^{-6}–10^{-9} М достоверно увеличивало жизнеспособность гиппокампальных клеток мышей линии НТ-22, что свидетельствует об их нейропротекторных свойствах [8].

С использованием радиолигандного метода была установлена высокая аффинность соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 к TSPO (K_i = 52 и 530 нМ, соответственно) [3, 9].

Таблица 1. Анксиолитическая активность производных пирроло[1,2-а]пиразина 1



Шифр	R^1	R^2	R^3	DS	LogP	LogBB	Активность в тесте ОП (мг/кг)	Активность в тесте ПКЛ (мг/кг)
ГМЛ-1	Me	Bn	H	-9.622	5.074	-0.086	акт.: 0,1-1,0; т.: 5,0	акт.: 0,1-1,0; неакт.: 5,0
ГМЛ-2	Me	*n*-Bu	Cl	-9.016	4.792	-0.020	акт.:0,5; т.: 1,0 неакт.: 0,1; 5,0	н.и.
ГМЛ-3	Me	*n*-Bu	H	-8.282	4.508	-0.109	акт.: 0,1-0,5; т.: 1,0-5,0	акт.: 0,1-1,5; неакт.: 5,0
ГМЛ-4	Me	*n*-Bu	F	-9.057	4.707	-0.062	неакт.: 0,5-1,0; акт.: 5,0-10,0	н.и.
ГМЛ-5	Me	*n*-Bu	Br	-8.949	4.939	-0.030	неакт.: 0,1-5,0	н.и.
ГМЛ-6	Me	*sec*-Bu	H	-8.253	4.345	0.070	неакт.: 0,1-5,0	н.и.
ГМЛ-7	H	Bn	H	-9.590	4.877	-0.220	неакт.: 0,1-5,0	н.и.
ГМЛ-8	H	Me	H	-8.147	3.189	-0.182	неакт.: 0,1-0,5; т.: 1,0-5,0	н.и.
ГМЛ-11	Ph	Bn	H	-10.215	4.707	-0.062	акт.: 0,1-0,1; неакт.: 0,5-1,0	неакт.: 0,1-0,5; акт.: 1,0-5,0
ГМЛ-12	*n*-Pr	*n*-Pr	H	-8.999	4.826	-0.223	акт.: 0,1-1,0; т.: 5,0	акт.: 0,1-5,0
ГМЛ-21	Ph	Me	H	-7.223	4.764	-0.008	акт.: 0,05-1,0; неакт.: 5,0	н.и.
ГМЛ-22	Ph	Et	H	-7.105	4.961	-0.021	акт.: 0,1-1,0; неакт.: 5,0	н.и.
ГМЛ-23	Ph	*n*-Bu	H	-8.397	5.391	-0.083	неакт.: 0,1-0,5; 5,0; т.: 1,0	н.и.
ГМЛ-24	Ph	H	H	-9.085	4.597	-0.153	т.: 0,1-1,0; неакт.: 5,0	н.и.
ГМЛ-101	Et	Bn	H	-10.144	5.433	-0.045	акт.: 1,0; т.: 0,1; 0,5; 5,0	н.и.
ГМЛ-102	$CHPh_2$	H	H	-9.551	6.506	-0.209	акт.: 0,1-1,0; т.: 5,0	акт.: 0,1-5,0
ГМЛ-103	Bn	Bn	H	-9.278	5.993	-0.112	неакт.: 0,1-5,0	н.и.
ГМЛ-104	$(CH_2)_2Ph(OMe)_2$-3,4	H	H	-9.404	5.032	-0.222	т.: 0,1-5,0	н.и.
ГМЛ-105	$CH_2Ph(OMe)_3$-3,4,5	H	H	-9.391	4.786	-0.335	т.: 0,1-1,0; неакт.: 5,0	н.и.
ГМЛ-106	*L*-Phe-OMe	H	H	-10,208	5.163	-0.676	неакт.: 0,1; т.: 0,5; акт.: 1,0-5,0	н.и.
ГМЛ-107	$-(CH_2)_7-$		H	-9.193	4.398	0.096	н.и.	акт.: 0.1; т.: 0.5–5.0
ГМЛ-108	*L*-Glu-OEt	H	H	-9.125	4.310	-1.027	н.и.	неакт.: 0,1-5,0
ГМЛ-109	*L*-Asp-OEt	H	H	-9.603	4.001	-1.325	н.и.	неакт.: 0,1; 0,5; 5,0 отр.акт.: 1,0
ГМЛ-110	*L*-Ala-OMe	H	H	-8.726	3.689	-0.751	н.и.	неакт.: 0,1-5,0
ГМЛ-111	*L*-Trp-OEt	H	H	-8.083	5.743	-0.954	н.и.	неакт.: 0,1-5,0 отр. акт.: 0,5
ГМЛ-112	*D*-Tyr-OEt	H	H	-10.119	4.874	-1.240	н.и.	неакт.: 0,1; 0,5; 5,0 отр.акт.: 1,0
ГМЛ-113	*L*-Phe-OH	H	H	-10.095	5.126	-1.043	н.и.	неакт.: 0,1; акт.: 0,5–5,0
Диазепам	*Препарат сравнения*						акт.: 1,0	акт.: 1,0

Примечания. DS (Docking score) – характеристика энергии взаимодействия «лиганд–рецептор» в докинговом исследовании; LogP –липофильность на разделе фаз октанол/вода; LogBB – показатель уровня проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер. ОП – тест «открытое поле»; ПКЛ – тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы; «отр. акт.» - дозы, при которых наблюдался отрицательный эффект. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0,05$ согласно критерию Манна-Уитни

Для получения доказательства участия TSPO и нейростероидов в реализацию биологической активности ГМЛ-1 и ГМЛ-3, были проведены эксперименты по изучению

влияния блокатора TSPO – соединения РК11195, а также ингибиторов ферментов, участвующих в биосинтезе нейростероидов, на анксиолитическое и антидепрессивное действие ГМЛ-1 и ГМЛ-3 [3, 10, 11]. В исследовании были использованы ингибитор фермента 3β-HSD (3β-гидроксистероиддегидрогеназы) трилостан и ингибитор фермент 5α-редуктазы финастерид, (см. рис. 1).

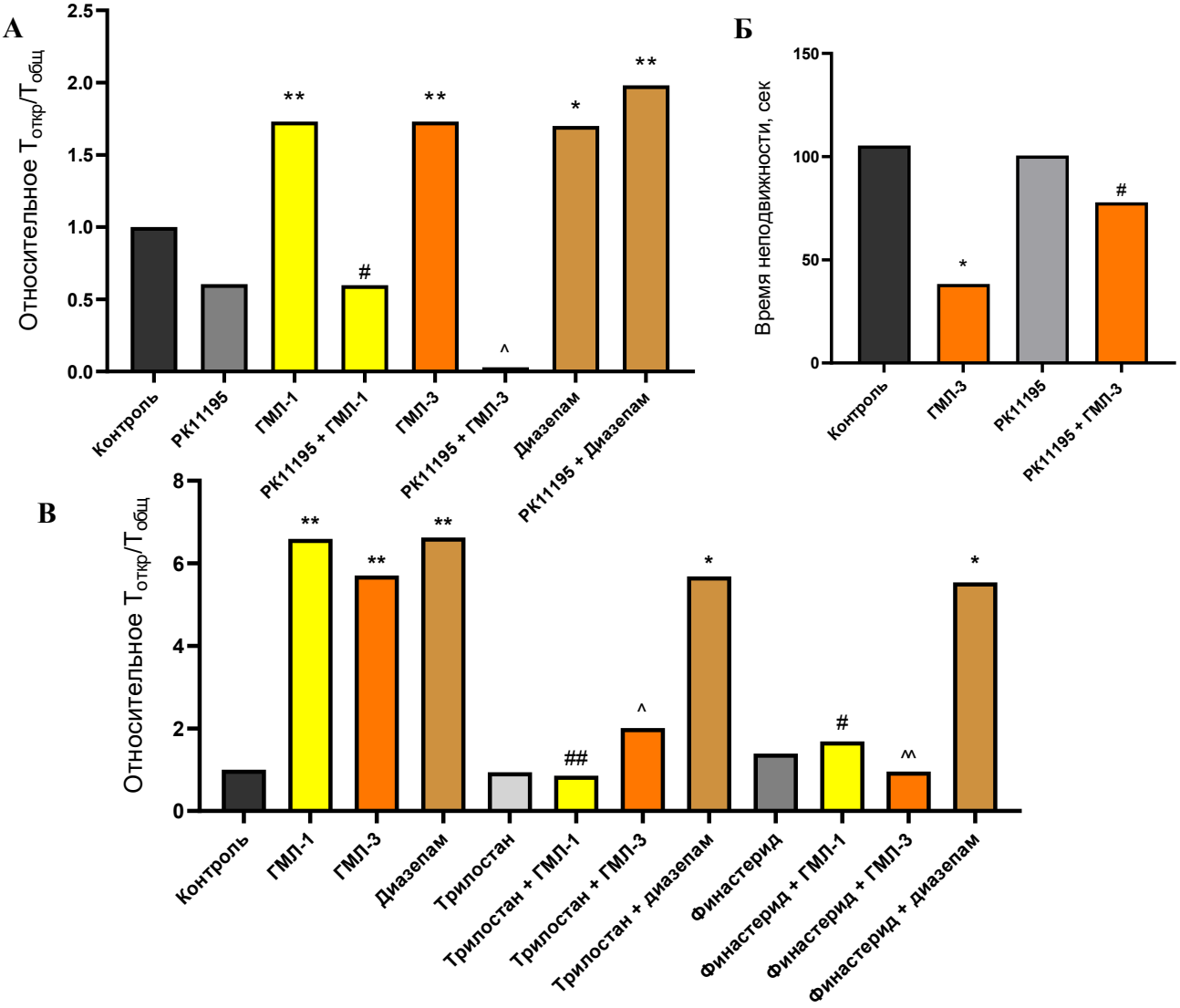


Рисунок 4. Доказательство участия TSPO и нейростероидов в реализацию биологической активности ГМЛ-1 и ГМЛ-3. (А) Влияние блокатора TSPO РК-11195 на анксиолитическое действие соединений ГМЛ-1 (0,5 мг/кг) и ГМЛ-3 (0,1 мг/кг) в сравнении с диазепамом (1,0 мг/кг) в тесте ПКЛ. (Б) Влияние блокатора TSPO РК-11195 на антидепрессивное действие соединения ГМЛ-3 (0,5 мг/кг) в тесте «подвешивание за хвост». (В) Влияние ингибиторов нейростероидогенеза трилостана и финастерида на анксиолитическое действие соединений ГМЛ-1 (0,5 мг/кг) и ГМЛ-3 (0,5 мг/кг) в сравнении с диазепамом (1,0 мг/кг)

В первом эксперименте соединения ГМЛ-1 (0,5 мг/кг) и ГМЛ-3 в (0,1 мг/кг) обладали выраженным анксиолитическим действием у мышей CD-1 в тесте ПКЛ, значимо увеличивая

относительное время нахождения в открытых рукавах лабиринта по сравнению с контрольными животными (рис. 4А). Предварительное введение PK11195 в дозе 10,0 мг/кг приводило к блокаде анксиолитических эффектов ГМЛ-1 и ГМЛ-3. В то же время PK11195 не изменял анксиолитическое действие диазепама (1,0 мг/кг) [3, 9]. В тесте подвешивание за хвост предварительное введение блокатора PK11195 также значимо препятствовало антидепрессивному эффекту препарата ГМЛ-3 в дозе 0,5 мг/кг, увеличивая время неподвижности животных почти до контрольных значений (рис. 4Б) [7].

В эксперименте с ингибиторами нейростеродогенеза (рис. 4В) аналогично ГМЛ-1 (0,5 мг/кг) и ГМЛ-3 (0,5 мг/кг) обладали значимой активностью в тесте ПКЛ. Трилостан и финастерид в дозах 10 мг/кг полностью блокировали анксиолитическое действие соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3, но не влияли на анксиолитическую активность диазепама. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о вовлеченности рецептора TSPO и нейростероидов в механизм анксиолитической и антидепрессивной активности лигандов ГМЛ-1 и ГМЛ-3 [10].

В рамках Госпрограммы Фарма 2020 (ГК № 14.N08.12.0087, 2016-2018 гг) был осуществлен основной цикл доклинических исследований соединения ГМЛ-1 в качестве быстрого анксиолитика. В результате этих исследований была создана готовая лекарственная форма (ГЛФ) ГМЛ-1 в виде таблеток [12, 13]. Были разработаны необходимые опытно-промышленные регламенты на производство как фармацевтической субстанции, так и готовой лекарственной формы ГМЛ-1.

Исследование специфической фармакологической активности ГМЛ-1 в таблетированной лекарственной форме показало, что препарат обладает выраженной анксиолитической активностью в диапазоне доз 0,1-5,0 мг/кг после однократного введения в тестах «конфликтной ситуации», «открытое поле» и «ПКЛ» у мышей и крыс. Специфический фармакологический эффект наблюдался в первый час после однократного введения и продолжался до пяти часов [12].

Показано, что у ГЛФ ГМЛ-1 также, как и фармацевтической субстанции имеется антидепрессивное действие при субхроническом введении в тесте «подвешивание за хвост» и ноотропная активность в тесте «распознавание нового объекта». Установлено, что ГЛФ ГМЛ-1 не вызывает нарушений моторных функции, координации движений, психостимулирующего, седативного действия, не вызывает отклонений в общем состоянии. При длительном введении ГЛФ ГМЛ-1 не развивается зависимость, а отмена длительного применения ГМЛ-1 не приводит к развитию синдрома отмены. У ГЛФ ГМЛ-1 отсутствует наркогенный потенциал и влияние на кардиопульмональную систему. Фармакокинетические данные, полученных в ходе выполнения проекта, продемонстрировали хорошие фармакокинетические показатели препарата ГМЛ-1 [14]. Соединение быстро и в достаточном количестве проникало в орган-мишень мозг, обладало высокой биодоступностью у крыс и кроликов.

Важнейшим результатом доклинических исследований является доказательство отсутствия у препарата ГМЛ-1 как острой, так и хронической токсичности [15, 16]. Это вещество в максимальных возможных для введения дозах (в дозах 1 г/кг (в/б) и 4 г/кг (перорально) не оказывало никакого токсического действия на мышей и крыс. Кроме того, ГМЛ-1 не оказывал иммунотоксического действия, не вызывал системной реакции анафилаксии, активной кожной анафилаксии, гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций. Доказано отсутствие у ГМЛ-1 эмбриотоксического, фетотоксического, тератогенного, мутагенного и канцерогенного действия.

Таким образом, разрабатываемый препарат ГМЛ-1 является первым в мире безопасным анксиолитическим средством быстрого действия без нежелательных побочных эффектов, характерных для бензодиазепинов. В отличие от бензодиазепинов, негативно влияющих на память, ГМЛ-1, напротив, обладает существенным положительным ноотропным эффектом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mokrov G. V., Deeva O.A., Gudasheva T.A. The Ligands of Translocator Protein: Design and Biological Properties // Current Pharmaceutical Design – 2020. – V. 27 – № 2 – P.217–237.

2. Diviccaro S., Cioffi L., Falvo E., Giatti S., Melcangi R.C. Allopregnanolone: An overview on its synthesis and effects // Journal of neuroendocrinology – 2022. – V. 34 – № 2 – P.e12996.

3. Mokrov G. V., Deeva O.A., Gudasheva T.A., Yarkov S.A., Yarkova M.A., Seredenin S.B. Design, synthesis and anxiolytic-like activity of 1-arylpyrrolo[1,2-a]pyrazine-3-carboxamides // Bioorganic and Medicinal Chemistry – 2015. – V. 23 – № 13 – P.3368–3378.

4. Mokrov G., Pantileev A., Yarkova M., Gudasheva T., Seredenin S. Design, Synthesis and Pharmacological Activity of New Pyrrolo[1,2-A] Pyrazine Translocator Protein (TSPO) Ligands // Medicinal chemistry – 2022. – V. 18 – № 4 – P.497–508.

5. Мокров Г.В., Пантилеев А.С., Яркова М.А., Рыбина И.В., Гудашева Т.А., Вахитова Ю.В., Середенин С.Б. Дизайн, синтез и изучение анксиолитической активности новых пирроло[1,2-а]-пиразиновых лигандов TSPO // Биоорганическая химия – 2023. – Т. 49 – № 2 – С.188–206.

6. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-а]пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // Химико-фармацевтический журнал – 2016. – Т. 50 – № 8 – С.3–6.

7. Яркова М.А., Поварнина П.Ю., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Антидепрессивный и ноотропный эффекты оригинальных лигандов транслокаторного белка TSPO ГМЛ-1 и ГМЛ-3 // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2017. – Т. 80 – № 4 – С.3–7.

8. Мокров Г.В., Николаев С.В., Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Нейропротекторные свойства оригинальных лигандов транслокаторного белка 18 кДа (TSPO)

соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2023. – Т. 86 – № 12 – С.3–6.

9. Ярков С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Середенин С.Б. Фармакологическое изучение новых соединений – регуляторов 18 кДа транслокаторного белка // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2016. – Т. 79 – № 1 – С.7–11.

10. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-a]пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // Химико-фармацевтический журнал – 2016. – Т. 50 – № 8 – С.3–6.

11. Ярков С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Середенин С.Б. Фармакологическое изучение новых соединений – регуляторов 18 кДа транслокаторного белка // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2016. – Т. 79 – № 1 – С.7–11.

12. Яркова М.А., Блынская Е.В., Юдина Д.В., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Алексеев К.В. Разработка и оценка анксиолитического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 // Химико-фармацевтический журнал – 2019. – Т. 53 – № 4 – С.39–43.

13. Середенин С.Б., Гудашева Т.А., Алексеев К.В., Блынская Е.В., Юдина Д.В., Михеева А.С., Мокров Г.В., Яркова М.А. Фармацевтическая композиция на основе N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-a]пиразин-3-карбоксамида // Патент РФ № 2689396 (2019).

14. Новицкий А.А., Бочков П.О., Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Середенин С.Б. Фармакокинетика потенциального анксиолитика ГМЛ-1 у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2018. – Т. 81 – № 6 – С.24–28.

15. Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Волкова А.В., Качалов К.С., Алексеев И.В., Захаров А.Д., Алексеева С.В., Дурнев А.Д. Исследование хронической токсичности потенциального анксиолитика ГМЛ-1 // Фармакокинетика и Фармакодинамика – 2019. – Т. 1 – С.44–53.

16. Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Алексеева С.В., Волкова А.В., Дурнев А.Д. Исследование острой токсичности ГМЛ-1 // Фармакокинетика и Фармакодинамика – 2018. – Т. 2 – С.65–70.

ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ НА ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ

Г.Д. Мороз

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

Аннотация. Катионные антимикробные пептиды (кАМП) являются перспективными противоинфекционными препаратами, не вызывающими резистентность у бактерий. В связи с потенциальным применением кАМП в медицине важно всесторонне исследовать их возможные побочные действия. Определённый интерес представляет взаимодействие кАМП с белками собственной антибактериальной системы организма. Одним из таких белков является миелопероксидаза (МПО) нейтрофилов, катализирующая образование хлорноватистой кислоты (HOCl), играющей ключевую роль в антимикробной функции этих клеток благодаря своей высокой реакционности. Данная работа посвящена изучению, с одной стороны, влияния кАМП на каталитическую активность МПО, с другой, воздействия HOCl на антибактериальную функцию кАМП. В исследование были включены четыре кАМП, синтезированные на основе биоинформатического анализа микробиома медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*. Обнаружено, что пептид Hm-AMP1 не влиял на каталитическую активность МПО, пептид Hm-AMP2 оказывал ускоряющее действие на функционирование МПО, а пептиды Hm-AMP8 и pept_1545 ингибировали МПО. Показано, что в механизмах этих эффектов задействованы остатки Tyr и Cys, входящие в состав кАМП. Обнаружено, что модификация кАМП под действием HOCl вызывала уменьшение их бактерицидной активности. Полученные результаты следует учитывать при разработке стратегий системного применения кАМП с целью терапии социально-значимых инфекционных заболеваний.

Введение

В последние десятилетия остро встаёт проблема развития резистентности бактерий к традиционным антибиотикам. Катионные антимикробные пептиды (кАМП) являются перспективными противоинфекционными препаратами, к которым бактериальная резистентность практически не возникает. кАМП имеются во всех живых организмов и являются компонентом врождённой иммунной системы. Природные кАМП представляют собой небольшие, от 10 до 50 аминокислотных остатков, положительно заряженные гидрофобные молекулы [1]. Опыт показывает, что, варьируя аминокислотный состав, можно получить новые кАМП, обладающие улучшенными по сравнению с природными аналогами свойствами, такими как бактерицидность, селективность и стабильность [2].

Как потенциальные терапевтические препараты, кАМП требуют оценки своих побочных эффектов на организм человека. В отличие от оценки цитотоксичности кАМП по их гемолитическому действию, работ, посвящённых взаимодействию кАМП и белков, крайне мало. Особенный интерес в этой связи представляют бактерицидные белки клеток врождённого иммунитета. Одним из таких белков является миелопероксидаза (МПО), секретируемая нейтрофилами в очаге инфекции. МПО катализирует образование высокореакционной хлорноватистой кислоты (HOCl), которая обладает неспецифическим ярко выраженным бактерицидным действием. Взаимное влияние кАМП и МПО может сказаться как на бактерицидной функции пептидов, так и на способности МПО катализировать образование HOCl.

Целью работы было выяснить, с одной стороны, способны ли кАМП изменять каталитическую активность МПО и с другой, будет ли меняться бактерицидная способность кАМП после воздействия на них HOCl. В исследование были включены четыре кАМП, синтезированные на основе биоинформатического анализа микробиома медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*.

Материалы и методы

В работе использовали реактивы фирмы Sigma (США). кАМП были синтезированы методом твердофазного синтеза [3, 4]. Аликвоты 2-4 мМ маточных растворов пептидов в деионизованной воде хранили замороженными при –20ºС. МПО была любезно предоставлена д.б.н. А.В. Соколовым (Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург). Концентрацию МПО (по гему) определяли спектрофотометрически, используя коэффициент мольной экстинкции ε_{430} = 91000 $M^{-1}см^{-1}$ [5]. Дитирозин детектировали по флуоресценции в диапазоне 400-410 нм при длине волны возбуждения 315 нм [6]. Содержание свободных сульфгидрильных групп оценивали спектрофотометрически с использованием реагента Эллмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)). Антибактериальную активность кАМП, модифицированных HOCl, определяли спектрофотометрически по оптической плотности при 540 нм жидкой культуры бактерий штамма *Escherichia coli (E. coli)* MG1685, инкубированной с кАМП в течение 6 часов в логарифмической фазе роста.

Результаты

Характеристика кАМП. В исследовании были использованы четыре синтетических коротких кАМП, аминокислотная последовательность которых была выбрана на основании результатов биоинформатического анализа микробиома медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* [3, 4]. В таблице представлены характеристики пептидов.

Таблица. Физико-химические характеристики кАМП, включенных в исследование

Наименование	Аминокислотная последовательность	Число аминокислот	M_r, Да	Заряд (pH 7)	МИК*, мкМ
Hm-AMP1	RLKRFKRVALRREKT ARNFRSIVS	24	2988,61	+9	>100
pept_1545	FLIGKAIKRKFCLRSV WNA	19	2250,81	+5	14
Hm-AMP8	RAVIYKIPYNAIASRWI IAPKKC	23	2675,31	+5	24
Hm-AMP2	EKRWRRLIFNYF	12	1728,05	+3	5

*Минимальная ингибирующая концентрация роста *E. coli.*

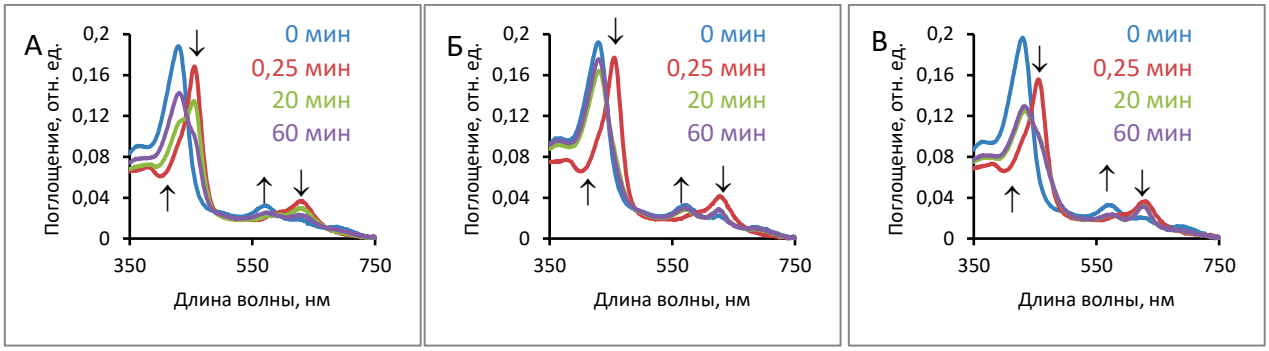


Рис.1. Спектры поглощения гемовой группы МПО в отсутствие (А) и в присутствии кАМП (Б – 150 мкМ pept_1545; В – 150 мкМ Hm-AMP8). Среда измерения: 10 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7,4, содержащий 2 мМ диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТПА). Концентрация МПО 2 мкМ (по гему). Реакцию запускали добавлением 100 мкМ H_2O_2. Приведены спектры, записанные до добавления (0 мин) и через 0,25, 20 и 60 мин после добавления H_2O_2. Стрелками указано направление в изменении интенсивности пика по мере протекания реакции.

Влияние кАПМ на каталитическую активность МПО. Изучение влияния кАМП на каталитическую активность МПО было проведено с помощью анализа спектров поглощения гемовой группы при функционировании МПО по пероксидазному циклу. Спектры поглощения МПО в ходе реакции с H_2O_2 в отсутствие пептидов показаны на рис. 1А. Спектр, полученный до добавления H_2O_2 (0 мин на рис. 1), характерен для исходной, нативной формы МПО, когда активный центр находится в ферри-состоянии (Fe^{3+}) и имеет полосу Соре при 430 нм и полосу при 570 нм [7]. Добавление H_2O_2 вызывало быстрое снижение поглощения при 430 нм и 570 нм и появление пиков поглощения при 455 нм и 630 нм, что указывает на переход фермента в

промежуточное состояние, называемое Соединением II [7]. Далее происходило постепенное исчезновение Соединения II с возвращением фермента в исходное состояние (рис. 1А).

Сами по себе пептиды, добавленные к МПО, не влияли на её спектр поглощения (0 мин на рис. 1Б и 1В). Однако при добавлении H_2O_2 в реакционную смесь, содержащую пептид pept_1545 (рис. 1Б) или Hm-AMP8 (рис. 1В), наблюдалось изменение в спектрах, отличное от изменений в контроле, указывая в первом случае на ускорение работы фермента, а во втором – на ее замедление.

Для исследования кинетики ферментативной реакции спектры поглощения записывались последовательно через определенные промежутки времени после добавления H_2O_2 к МПО в присутствии или в отсутствие кАМП, строились графики зависимости поглощения нативной МПО (на длине волны 430 нм) и Соединения II (на длине волны 455 нм) от времени. Результаты представлены на рис. 2.

Как видно из рис. 2А, Hm-AMP2 ускорял убыль Соединения II и возвращение фермента в исходную форму, и этот эффект возрастал с увеличением мольного отношения пептид/гем. Hm-AMP8 ингибировал каталитическую активность МПО (рис. 2Б). Хотя по сравнению с контрольной МПО наблюдалось более быстрое уменьшение интенсивности поглощения при 455 нм, она, в конечном счете, не снизилась до исходного уровня, что указывает на накопление Соединения II. Влияние pept_1545 на активность МПО имело двойственный характер (рис. 2В). При концентрациях 30 мкМ и 150 мкМ доминирующим эффектом было ускорение восстановления Соединения II до нативной формы МПО, что могло означать активирующее воздействие пептида на работу МПО. При концентрациях 200 мкМ и 250 мкМ наблюдалась 10-минутная задержка фермента в форме Соединения II. Затем следовала резкая убыль Соединения II наряду с увеличением количества нативной формы МПО. Hm-AMP1 не оказывал существенного влияния на функционирование МПО (рис. 2Г).

Возможное объяснение вызванного пептидом ускорения каталитических оборотов МПО может быть следующим. Когда Соединение II образуется при избытке H_2O_2 (как это было в наших экспериментах), его медленное превращение в исходную форму фермента может быть ускорено восстанавливающим субстратом Соединения II, дополнительно присутствующим в реакционной смеси. Таким образом, результаты этого исследования, полученные в широком диапазоне концентраций пептида от значения мольного отношения пептид/гем, равного 15:1, до значения 125:1, указывают на то, что Hm-AMP2, Hm-AMP8 и pept_1545 могут быть субстратами МПО. Это заставляет обратить внимание на присутствующие в этих пептидах остатки Tyr и Cys, которые окисляются под действием МПО. Чтобы прояснить механизмы наблюдаемых эффектов пептидов, были проведены эксперименты по обнаружению продуктов окисления пептидов миелопероксидазой.

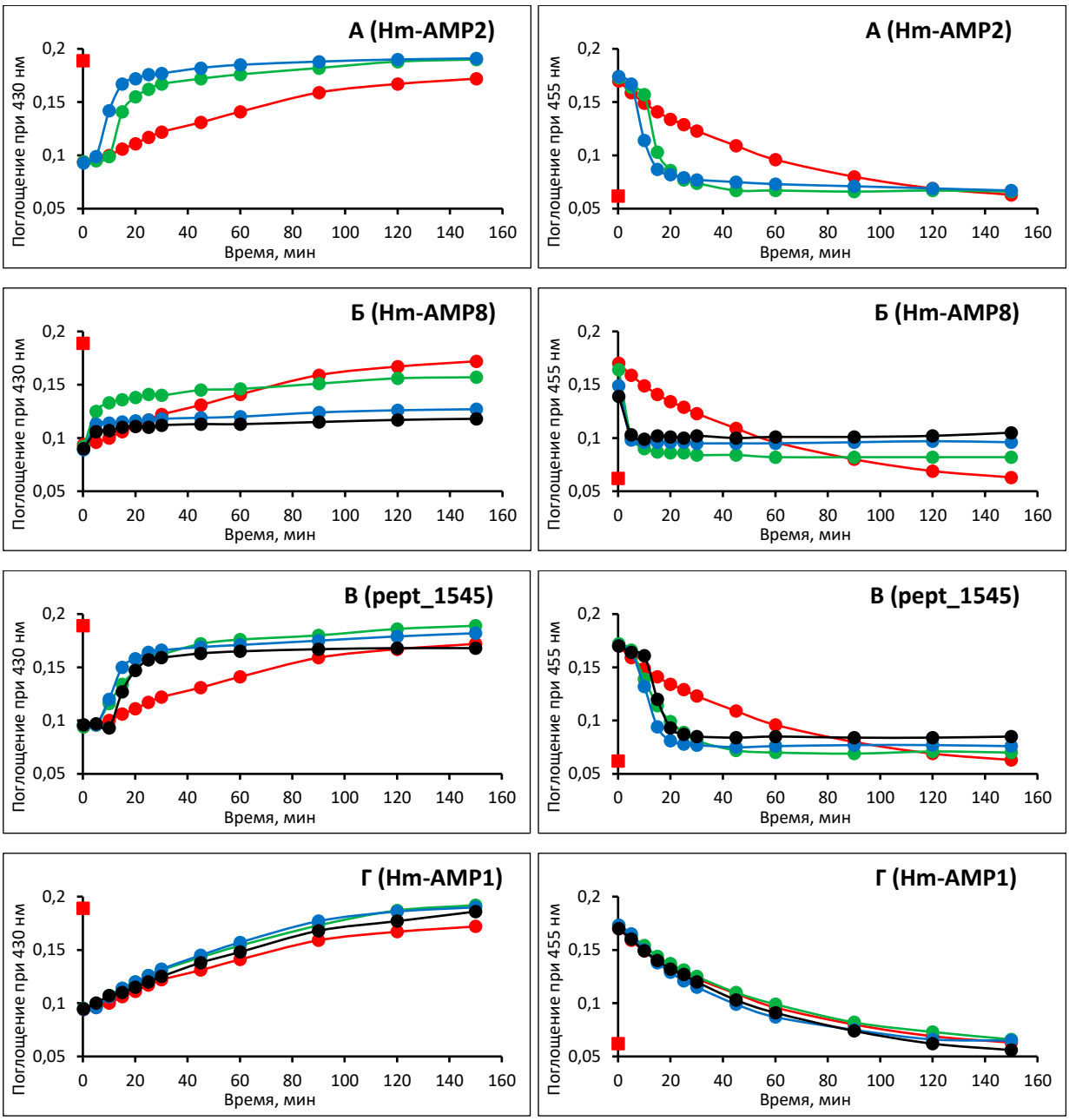


Рис. 2. Кинетики изменения интенсивности поглощения при 430 нм (нативная форма МПО, левая панель) и 455 нм (Соединение II, правая панель) при функционировании МПО в отсутствие и в присутствии кАМП. H_2O_2 (100 мкМ) добавлялся к МПО (2 мкМ по гему), преинкубированной в течение 5 мин без кАМП или с кАМП при разном мольном отношении пептид/гем в 10 мМ Na-фосфатном буфере, pH 7,4, содержащем 0,2 мМ ДТПА. Спектры записывались до и после добавления H_2O_2 через разные промежутки времени. Значения интенсивности поглощения до добавления H_2O_2 обозначены красным квадратом. Кривые красного цвета – МПО в отсутствие пептида; кривые зеленого цвета – пептид/гем = 15 моль/моль; кривые синего цвета – пептид/гем = 45 моль/моль для Hm-AMP2 и пептид/гем = 75 моль/моль для остальных пептидов; кривые черного цвета – пептид/гем = 100 моль/моль.

Образование дитирозина в кАМП в присутствии функционирующей МПО. При окислении Tyr Соединением I или II образуется тирозильный радикала (Tyr•), который крайне нестабилен и легко рекомбинирует с образованием дитирозина: 2Tyr• → diTyr. Образование diTyr в наших экспериментах с МПО и пептидами могло служить доказательством того, что остатки Tyr в пептидах взаимодействуют с МПО. Для решения вопроса об образовании diTyr был использован метод флуориметрии.

Флуориметрическое исследование было проведено в условиях, совпадающих с условиями записи спектров поглощения МПО (см. рис. 1). Флуоресценции, характерной для diTyr, не наблюдалось в отсутствие H_2O_2 в образцах МПО без пептида или с пептидом. После добавления H_2O_2 к МПО в присутствии пептида запускали последовательную запись спектров флуоресценции через определенные промежутки времени. Образование diTyr контролировали по увеличению интенсивности флуоресценции. Результаты, полученные для Hm-AMP2, отчетливо указывали на образование diTyr в этом пептиде (рис. 3). Видно появление флуоресценции diTyr и её возрастание со временем.

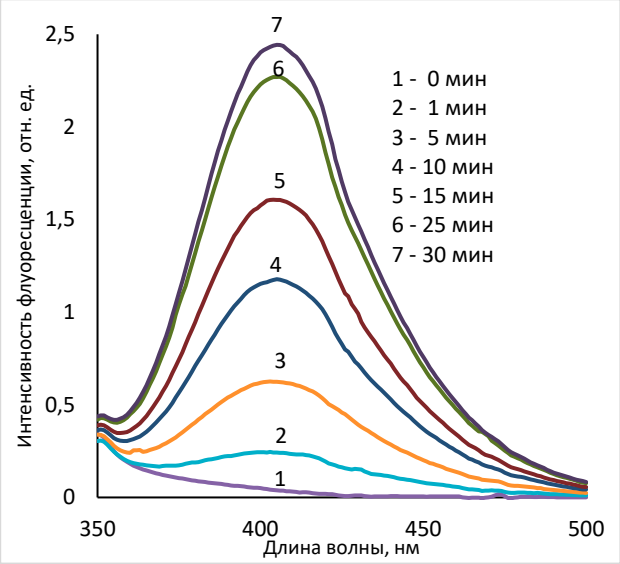


Рис. 3. Спектры флуоресценции дитирозина, образующегося во время инкубации Hm-AMP2 с функционирующей МПО. Экспериментальные условия: 40 мкМ Hm-AMP2, 0,4 мкМ (по гему) МПО, 50 мкМ H_2O_2 в 10 мМ Na-фосфатном буфере с pH 7,4, содержащем 0,2 мМ ДТПА. Спектры ($\lambda_{возб.}$ = 315 нм) записывались до (0 мин на рисунке) и после добавления H_2O_2 через указанные на рисунке промежутки времени.

В спектрах флуоресценции реакционной смеси МПО, H_2O_2 и Hm-AMP8 не наблюдалось достоверного увеличения эмиссии, характерной для diTyr. Впрочем, отсутствие diTyr само по себе не является достаточным доказательством того, что остатки Tyr в Hm-AMP8 не могут участвовать в каталитических реакциях МПО. Окисление остатков Tyr могло и не сопровождаться образованием diTyr. Tyr• мог реагировать с остатком Cys быстрее, чем могло идти образование diTyr, как, например, было показано в работе [8].

Таким образом, результаты экспериментов с использованием флуоресцентной спектроскопии подтвердили спектрофотометрические данные о взаимодействии между остатком Tyr в Hm-AMP2 и активным центром МПО с образованием Tyr•.

Участие цистеина в реакциях кАМП с МПО. Для выяснения механизма обнаруженного влияния pept_1545 на активность МПО было оценено, участвует ли остаток Cys пептидов pept_1545 и Hm-AMP8 в реакциях пероксидазного цикла МПО. Мы сравнили количество свободных сульфгидрильных групп –SH в реакционной смеси пептида, МПО и H_2O_2 с количеством в контрольных образцах, содержащих смесь пептида и МПО без добавления H_2O_2. Измерения сульфгидрильных групп проводили через 5 и 90 мин инкубации после начала ферментативной реакции. Количество SH-групп через 5 мин инкубации составило (80 ± 4*)% для pept_1545 и (93 ± 5)% для Hm-AMP8, а через 90 минут – (76 ± 5*)% для pept_1545 и (79 ± 6*)% для Hm-AMP8 (* $p < 0,05$).

Таким образом, количество SH-групп в pept_1545 после 5-минутной инкубации с МПО и H_2O_2 уменьшилось примерно на 20% и в дальнейшем не изменялось, т.е. произошло быстрое окисление остатков Cys пептида. Это, всего вероятнее, связано с тем, что имело место их окисление, катализируемое ферментом.

При инкубации Hm-AMP8 с МПО окисление SH-групп происходило, но кинетика окисления отличалась от кинетики в случае pept_1545 и свидетельствовала о меньшей скорости реакции. К 5-ти минутам после начала инкубации, когда окисление SH-групп в pept_1545 уже достигало конечного уровня, в Hm-AMP8 наблюдалось лишь недостоверное уменьшение их количества. Такой результат можно объяснить, если предположить, что не SH-группа в Hm-AMP8 является мишенью для реакций с Соединениями I или II, а остатки Tyr. Образовавшиеся в результате окисления остатков Tyr тирозильные радикалы в свою очередь могут вступать в реакцию с остатком Cys. Как уже отмечалось выше, такое явление наблюдалось в пептидах и было описано в работе [8]. Для скорости реакции остатков Cys с Tyr• лимитирующим звеном могла быть диссоциация Hm-AMP8 из фермент-субстратного комплекса. Более того, возможно, эта реакция противодействовала реакции остатков Tyr между собой, и потому не была обнаружена флуоресценция diTyr в случае пептида Hm-AMP8.

Влияние модификации кАМП под действием HOCl на их бактерицидную активность. В предыдущем разделе было показано, что кАМП способны влиять на активность МПО. С другой стороны, продуцируемая в результате МПО-катализа HOCl может реагировать с аминокислотными остатками кАМП, модифицировать их структуру, что должно отразиться на их бактерицидности.

Эксперименты по выяснению влияния модификации кАМП, вызванной HOCl, на их антибактериальный потенциал были проведены с использованием *E. coli* и трех пептидов Hm-AMP2, pept_1545 и Hm-AMP8, которые обладают высокой бактерицидностью по отношению к этим бактериям (см. таблицу). Результаты экспериментов представлены на рис. 4.

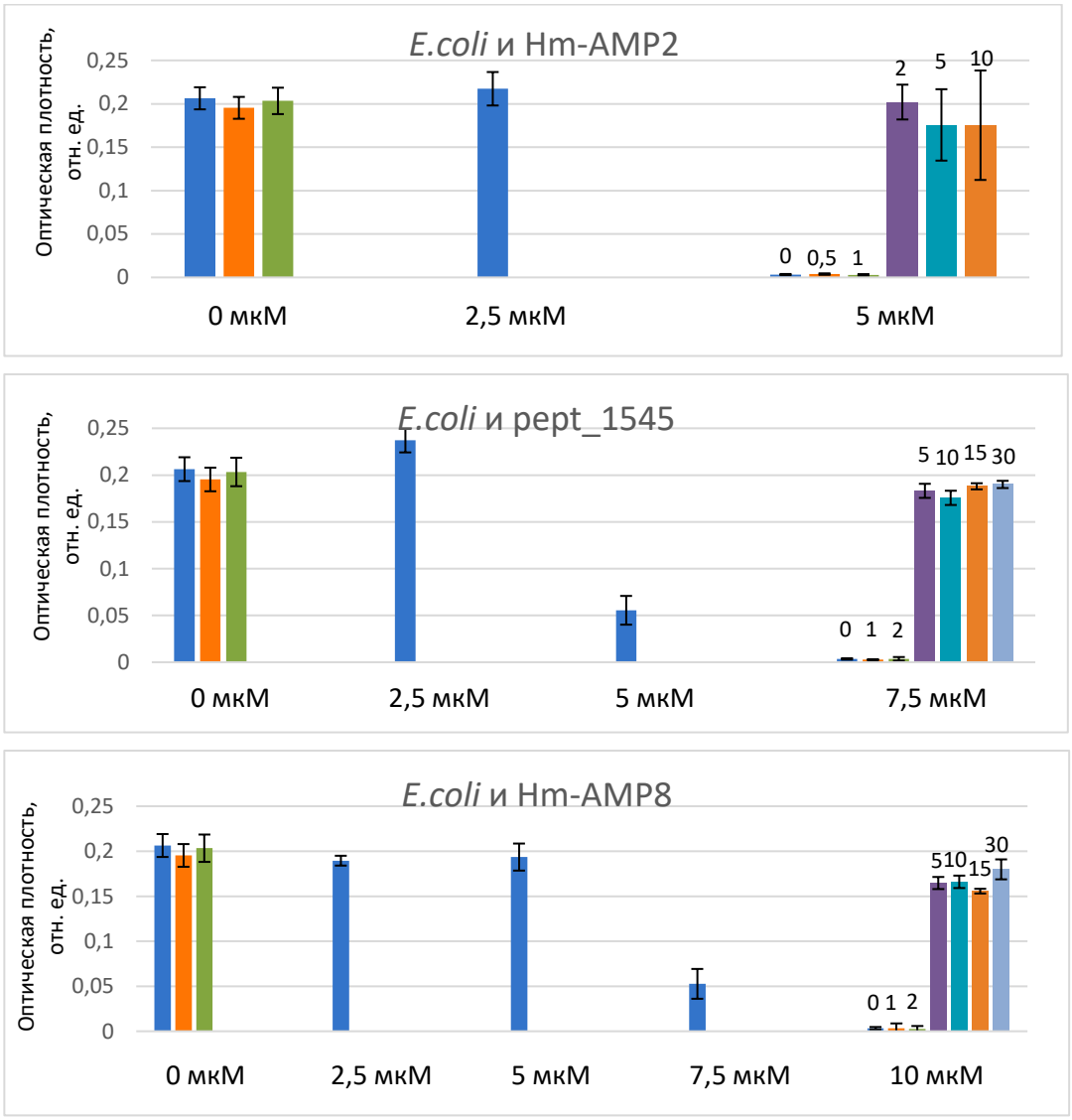


Рис. 4. Рост бактерий *E. coli* в отсутствие кАМП (*левая группа столбиков*), в присутствии кАМП (*отдельные синие столбики посередине*) и в присутствии кАМП, предварительно модифицированных под действием HOCl (*правая группа столбиков*). Количество бактерий в суспензии выражено в виде оптической плотности при 540 нм. Под столбиками указана концентрация пептида при инкубации с бактериями. Предварительная инкубация пептидов с HOCl проводилась в PBS при разном мольном отношении HOCl/пептид. Затем для устранения оставшейся не прореагировавшей HOCl добавляли метионин. К пептидам, не обработанным и обработанным HOCl, добавляли суспензию бактерий, приготовленную в среде LB. В контрольные образцы бактерий вместо пептида добавлялся PBS (*синий столбик в левой группе столбиков*), или PBS с метионином (*коричневый столбик в левой группе столбиков*), или PBS с HOCl в наибольшей из использованных концентраций и метионином (*зеленый столбик в левой группе столбиков*). На рисунках над столбиками правой группы приведены величины мольного отношения HOCl/пептид, использованные для получения модифицированных пептидов.

Пептиды при наименьшей из концентраций, предотвращающих рост бактерий, обрабатывались HOCl, взятой в разном мольном отношении HOCl/пептид. По мере увеличения этого отношения при определенном его значении наступала потеря бактерицидного действия пептидов. Минимальное значение HOCl:кАМП (моль/моль), при котором происходила потеря бактерицидного действия кАМП, составило 2:1 для пептида Hm-AMP2 и 5:1 для пептидов pept_1545 и Hm-AMP8, что объясняется различным содержанием в пептидах остатков Lys, Trp и Cys – потенциальных мишеней HOCl.

Таким образом, на основании результатов этой работы можно полагать, что, с одной стороны, среди кАМП могут быть пептиды, способные оказывать влияние на ферментативную и бактерицидную активности МПО, а с другой стороны МПО посредством продукции HOCl может приводить к уменьшению бактерицидности кАМП, что непременно следует учитывать при разработке стратегий системного применения кАМП с целью терапии социально-значимых инфекционных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ramazi S., Mohammadi N., Allahverdi A., Khalili E., Abdolmaleki P. A review on antimicrobial peptides databases and the computational tools//Database (Oxford). –2022. –V. 2022:baac011.
2. Lima B., Ricci M., Garro A., Juhász T., Szigyártó I.C., Papp Z.I., Feresin G., Torre J.G., Cascales J.L., Fülöp L., Beke-Somfai T., Enriz R.D. New short cationic antibacterial peptides. Synthesis, biological activity and mechanism of action//Biochim. Biophys. Acta. Biomembr. –2021. –V. 1863:183665.
3. Grafskaia E., Pavlova E., Babenko V., Latsis I., Malakhova M., Lavrenova V., Bashkirov P., Belousov D., Klinov D., Lazarev V. The Hirudo medicinalis microbiome is a source of new antimicrobial peptides//Int. J. Mol. Sci. –2020. –V. 21:7141.
4. Grafskaia E.N., Pavlova E.R., Latsis I.A., Malakhova M.V., Ivchenkov D.V., Bashkirov P.V., Kot E.F., Mineev K.S., Arseniev A.S., Klinov D.V., Lazarev V.N. Non-toxic antimicrobial peptide Hm-AMP2 from leech metagenome proteins identified by the gradient-boosting approach//Mater. Des. –2022. –V. 224:111364.
5. Furtmüller P.G., Burner U., Obinger C. Reaction of myeloperoxidase compound I with chloride, bromide, iodide, and thiocyanate//Biochemistry. –1998. –V. 37. –P. 17923–17930.
6. Verzini S., Shah M., Theillet F.X., Belsom A., Bieschke J., Wanker E.E., Rappsilber J., Binolfi A., Selenko P. Megadalton-sized dityrosine aggregates of α-synuclein retain high degrees of structural disorder and internal dynamics//J. Mol. Biol. –2020. –V. 432(24):166689.
7. Hoogland H., van Kuilenburg A., van Riel C., Muijsers A.O., Wever R. Spectral properties of myeloperoxidase compounds II and III//Biochim. Biophys. Acta. –1987. –V. 916(1). –P. 76-82.
8. Zhang H., Jing X., Shi Y., Xu H., Du J., Guan T., Weihrauch D., Jones D.W., Wang W., Gourlay D., Oldham K.T., Hillery C.A., Pritchard R.A.Jr. N-acetyl lysyltyrosylcysteine amide inhibits myeloperoxidase, a novel tripeptide inhibitor//J. Lipid Res. –2013. –V. 54. –P. 3016–3029.

МОНО-N-АЛКИЛИРОВАННОЕ ПРОИЗВОДНОЕ АМФОТЕРИЦИНА В – ЭФФЕКТИВНЫЙ АНТИМИКОТИК С АНТИБИОПЛЕНОЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

О.А. Омельчук, Н.Э. Грамматикова, Е.Н. Бычкова, Г.В. Затонский

Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021, Российская Федерация

***Обоснование*:** Системные микозы представляют серьезную опасность, особенно для пациентов со сниженным иммунитетом. Противогрибковые препараты первой линии, используемые для лечения внутрибольничных микозов, включают препараты на основе азолов (флуконазол, итраконазол, вориконазол и др.) и эхинокандинов (микафунгин, каспофунгин, анидулафунгин). Однако повсеместное использование этих противогрибковых средств привело к росту устойчивости патогенных микроорганизмов к данным классам препаратов. Для поиска нового поколения противогрибковых антибиотиков одним из наиболее перспективных классов являются противогрибковые полиеновые макролиды группы амфотерицина В благодаря широкому спектру их антифунгальной активности, в т.ч. к резистентным штаммам. Системное применение амфотерицина В ограничено его низкой растворимостью в водных средах и серьезными побочными эффектами, такими как гемолитическая токсичность и нефротоксичность. Модификация структуры природных антибиотиков является одним из основных способов улучшения их фармакологического профиля.

***Цель исследования*:** создание производных полиеновых антибиотиков с улучшенными фармакологическими свойствами.

***Методы*:** получение новых производных макролидных полиеновых антибиотиков осуществлялось путем химической модификации природных антибиотиков, очистка проводилась хроматографически, строение и чистота устанавливались методами физико-химического анализа (масс-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, анализ методом ВЭЖХ). Противогрибковая активность полиеновых антибиотиков оценивалась *in vitro* методом микроразведений в бульоне, для оценки антибиопленочной активности использованы: МТТ-тест (оценка метаболической активности клеток), флуоресцентная микроскопия (окрашивание DAPI/PI), сканирующая ионопроводящая микроскопия (СИМП); токсичность исследована в тесте на гемолитическую активность.

***Результаты*:** получены и охарактеризованы новые моно-N-алкилированные производные амфотерицина В и нистатина, исследована их активность в отношении панели штаммов грибов; для лидера серии изучена антибиопленочная и гемолитическая активность.

***Заключение*:** введение 2-((2-гидроксиэтил)амино)этильного фрагмента в сахарный остаток амфотерицина В приводит к повышению антифунгальной активности и значительному усилению действия антибиотика на биопленки при одновременном снижении токсичности.

Ключевые слова: полусинтетические макролиды, полиеновые противогрибковые антибиотики, амфотерицин В, антибиопленочная активность, антифунгальная активность.

MONO-N-ALKYLATED DERIVATIVE OF AMPHOTERICIN B - AN EFFECTIVE ANTIFUNGAL WITH ANTIBIOFILM ACTIVITY

O.A. Omelchuk, N.E. Grammatikova, E.N. Bychkova, G.V. Zatonsky

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Background: *Systemic mycoses pose a serious threat, especially to patients with compromised immunity. First-line antifungal drugs used for the treatment of hospital-acquired mycoses include azole-based drugs (fluconazole, itraconazole, voriconazole, etc.) and echinocandins (micafungin, caspofungin, anidulafungin). However, the widespread use of these antifungal agents has led to an increase in resistance among pathogenic microorganisms to these classes of drugs. One of the most promising classes for the search for a new generation of antifungal antibiotics are the polyene macrolide antifungals of the amphotericin B group, thanks to their broad spectrum of antifungal activity, including against resistant strains. The systemic use of amphotericin B is limited by its low solubility in aqueous environments and serious side effects such as hemolytic toxicity and nephrotoxicity. Modification of the structure of natural antibiotics is one of the main ways to improve their pharmacological profile.*

Aims: *To create derivatives of polyene antibiotics with improved pharmacological properties.*

Materials and methods: *New derivatives of macrolide polyene antibiotics were obtained through chemical modification of natural antibiotics; purification was performed chromatographically, structure and purity were determined by physicochemical analysis methods (mass spectrometry, NMR spectroscopy, HPLC analysis). The antifungal activity of polyene antibiotics was assessed in vitro using the broth microdilution method. To evaluate antibiofilm activity, the following were used: MTT assay (evaluation of cell metabolic activity), fluorescent microscopy (DAPI/PI staining), scanning ion conductance microscopy; toxicity was investigated in the hemolysis test.*

Results: *New mono-N-alkylated derivatives of amphotericin B and nystatin have been synthesized and characterized, their activity against a panel of fungal strains has been studied; for the lead compound, antibiofilm and hemolytic activity were examined.*

Conclusions: *The conducted study showed that the introduction of long lipophilic substituents into the amino group of mycosamine in polyene antibiotics leads to a decrease in antifungal activity. This may be related to a decrease in the penetrating ability of semisynthetic polyenes through fungal cell walls due to an increase in the hydrophobicity of their structure. Modification of the polyene structure with a 2-(ethylamino)ethanol residue enhances the antifungal properties of the antibiotic while reducing hemolytic toxicity. Amphotericin B, by suppressing the metabolic activity of cultures within biofilms at concentrations close to the MIC, does not lead to significant changes in the biofilm structure, whereas its N-alkylated derivative with a 2-(ethylamino)ethanol moiety reduces the size and density of the biofilm, i.e., causes eradication. Disadvantages of this derivative include the preservation of the zwitterionic character of the molecule, which entails a high propensity for self-aggregation associated with toxicity for polyenes, and a low degree of solubility in aqueous media. To eliminate these disadvantages, it would be advisable to further modify the carboxyl group of N-(2-((2-hydroxyethyl)amino)ethyl)amphotericin B.*

Keywords: *amphotericin b; nystatin; chemistry, pharmaceutical; biofilms; antifungal agents; hemolysis*

Обоснование

Системные внутрибольничные микозы являются одним из серьезных факторов риска для жизни пациентов с ослабленным иммунитетом [1]. Эффективность применяемых для лечения грибковых инфекций препаратов на основе азолов (например, флуконазол, итраконазол, вориконазол) и эхинокандинов (такие как микафунгин, каспофунгин, анидулафунгин) постепенно снижается вследствие распространения лекарственной устойчивости к их действию [2]. Наиболее редко встречается устойчивость к амфотерицину В – противогрибковому антибиотику группы полиеновых макролидов. Кроме того, в сравнительном исследовании анидулафунгина, флуконазола и амфотерицина В только последний проявил антибиопленочную активность в отношении клинических изолятов *C. albicans* [3]. Однако, амфотерицин В является препаратом выбора в очень ограниченном ряде случаев (например, для терапии мукормикозов или кандидозов, вызванных резистентными штаммами), так как характеризуется наличием серьезных побочных эффектов (нефро- и гематотоксичностью), а также низкой биодоступностью [4]. Существует два основных способа улучшения фармакологических свойств природных антибиотиков: модификация их структуры и создание лекарственных форм и систем доставок. Разработка противогрибковых препаратов нового поколения на основе полиеновых макролидов является перспективным направлением, реализуемым различными научными группами [5-8].

Противогрибковое действие полиеновых антибиотиков заключается в нарушении структуры и функции клеточной мембраны грибов, в том числе за счет образования трансмембранных пор, что приводит к гибели клетки. Основной биомишенью для этих соединений является эргостерол, важный компонент мембраны грибковых клеток, аналогичный холестерину в мембранах клеток млекопитающих [9].

Основными фармакофорным элементом структуры полиеновых антибиотиков является полярная часть молекулы – карбоксильная группа и сахарный остаток, содержащий аминогруппу (микозамин) (рисунок 1). Именно эта часть молекулы отвечает за связывание со стеринами, а также играет ключевую роль в стабильности образующихся в мембране каналов [10]. Ранее было установлено, что бис-алкилирование аминогруппы микозамина приводит к увеличению активности полиеновых антибиотиков [11]. В представленной работе описаны новые моно-N-алкилированные производные амфотерицина В и нистатина и исследована их противогрибковая активность; для соединения лидера изучена антибиопленочная активность и проведена оценка гемолитической активности в сравнении с исходным антибиотиком.

Цель исследования: получение производных полиеновых антибиотиков с улучшенными фармакологическими свойствами.

Методы

Химическая часть

Спектры ЯМР ^{1}H и ^{13}C зарегистрированы на ЯМР-спектрометре Bruker Avance III 500 МГц при в резонансных частотах 500,23 и 125,78 МГц для ^{1}H и ^{13}C, соответственно. Спектры регистрировали в растворах ДМСО-d6 при 303 К. Масс-спектры высокого разрешения ESI зарегистрированы на спектрометре Bruker microTOF-Q II ™ (BrukerDaltonics GmbH, Бремен, Германия). Растворы образцов (0.1 мг/мл) в смеси ацетонитрил – HCOOH (2000:1) прямо вводили в ESI-источник. Положительно и отрицательно заряженные ионы детектировали в следующих условиях: напряжение на капилляре 4 kV, давление азота в небулайзере 0.4 Бар, скорость потока осушающего газа 4 л/мин и температура источника 180 °C.

Контроль за ходом реакций и чистотой соединений проводили методом ТСХ на пластинах Silufol и Silica Gel 60 F254 (Merck) в системах: (I) $CHCl_3$–MeOH–H_2O–HCOOH, 13: 6:

0,8: 0,01; (II) н-PrOH–EtOAc–NH_4OH, 3: 3: 3; (III) н-PrOH – EtOAc – NH_4OH, 3:3:2. Препаративную нормально-фазовую хроматографию соединений проводили на силикагеле марки Merck 60 (SiO_2). Обращенно-фазовую хроматографию соединений проводили на автоматической флеш-хроматографической системе Isolera Prime с использованием картриджей C18 Isolera Biotage 6 и 12 г, SepaFlash 16 г. Элюцию проводили системами вода-ацетонитрил, 0,5% р-р уксусной кислоты-ацетонитрил. Анализ методом ВЭЖХ проводили на хроматографе Shimadzu LC-20 AD, колонна Kromasil 100-5 мкм, C-18, 4.6×250 мм, объем пробы 20 мкл (концентрация веществ 0,025–0,05 мг/мл) при скорости потока 1,0 мл/мин, детекцию проводили на УФ-детекторе при 320 для нистатинов и 408 нм – для амфотерицинов. Система состояла из буфера - 0,2% $HCOONH_4$ при pH 4,5 и органической фазы - ацетонитрила. Доля ацетонитрила варьировалась от 30 до 60% в течение 15 мин.

Реагенты и растворители высокой степени очистки получены коммерчески (Acros, Aldrich, Alfa Aesar, Merck). Реакции с полиенами проводились без доступа света и в инертной атмосфере. Общая методика: Навеску 0.2 г (0.216 ммоль) амфотерицина B или нистатина растворяли в 2 мл ДМСО, добавляли раствор (0.650 ммоль) N-Fmoc альдегида в 4 мл MeOH, перемешивали при комнатной температуре 30 мин., затем добавляли 0.041 г (0.650 ммоль) $NaBH_3CN$ и 0.05 мл AcOH (контроль протекания реакции ТСХ система I). Через 24 ч реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (250 мл), выпавший осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили. Полученный технический продукт растворяли в 4 мл 20% р-ра пиперидина в ДМФА и перемешивали при комнатной температуре. Через 2 ч реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (200 мл), выпавший осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили. Продукт очищали обращенно-фазовой хроматографией с использованием автоматической системы для хроматографии Isolera Prime. Фракции, содержащие целевое вещество (контроль ТСХ системы II и III), объединяли и упаривали, к остатку добавляли диэтиловый эфир (150 мл). Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном (10 мл) и диэтиловым эфиром (2x15 мл) и высушивали в вакууме 24ч.

N-((2-(децилламино)этил)амино)амфотерицин B (3) Выход 62 мг (26%), оранжевый порошок; Rt 19.52 мин; чистота 95%; HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$ Рассчитано для $C_{59}H_{98}N_2O_{17}^+$ 1107.6938. Найдено 1107.6939. ЯМР ^{1}H (500.23 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 2.17; 4.07; (1.34, 1.41); 3.53; (1.40, 1.28); (1.59, 1.27); 3.12; 3.47; (1.57, 1.35); 4.25; 1.55; (1.89, 1.11); 4.01; 1.98; 4.22; (2.00, 1.57); 4.41; 5.98; 6.12; 6.39; 6.27; 6.45; 6.33; 6.32; 6.33; 6.35; 6.30; 6.18; 6.18; 6.09; 5.45; 2.29; 1.04; 3.10; 1.74; 0.91; 5.22; 1.11; 4.33; 3.69; 3.57; 3.14; 1.18; (3.01, 2.85); 3.03; 2.91; 1.58; 1.31; 1.26; 1.29; 1.28; 1.26; 1.56; 1.27; 0.86. ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 170.5; 42.0; 66.2; 44.7; 69.2; 35.0; 28.9; 73.5; 73.7; 39.5; 67.7; 46.0; 97.2; 44.2; 65.4; 57.1; 64.9; 36.5; 74.5; 136.2; 128.8; 133.2; 131.9; 133.7; 132.4; 133.1; 132.3; 133.5; 132.4; 131.7; 132.1; 131.1; 136.7; 42.2; 18.4; 77.1; 39.6; 12.0; 68.9; 16.9; 174.2; 96.8; 66.3; 68.2; 72.9; 18.0; 42.1; 46.6; 47.3; 25.5; 25.8; 28.8; 28.4; 28.7; 28.6; 31.2; 22; 13.8

N-(2-(децилламино)этил)нистатин (4) Выход 57 мг (24%), бежевый порошок; Rt 17.73 мин; чистота 93%; HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$ Рассчитано для $C_{59}H_{100}N_2O_{17}^+$ 1109.7095. Найдено 1109.7059. ЯМР ^{1}H (500.23 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: (2.34, 2.29); 4.01; 1.48; 3.80; (1.48, 1.37); 3.59; (1.69, 1.58); 1.44; 3.25; 3.90; (1.48, 1.39); (1.92, 1.18); 3.99; 1.97; 3.93; (1.80, 1.61); 4.34; 5.66; 6.20; 6.21; 6.24; 6.22; 6.21; 6.12; 5.68; 2.16; 2.16; 5.50; 5.96; 5.96; 5.51; 2.25; 0.96; 3.14; 1.80; 0.86; 5.06; 1.10; 4.40; 3.72; 2.35; 3.01; 3.12; 1.15; 2.96; 3.00; 2.88; 1.56; 1.26; 1.26; 1.26; 1.26; 1.30; 1.23; 1.27; 0.86. ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 170.4; 42.6; 65.8; 44.3; 67.9; 34.4; 69.4; 42.0; 28.4; 73.3; 70.1; 44.3; 97.3; 44.2; 65.3; 57.4; 65.6; 37.7; 75.7; 133.4; 130.7; 133.2; 131.8; 131.2; 133.2; 131.0; 134.5; 31.6; 31.6; 131.1; 131.2; 129.4; 135.5; 40.3; 16.5; 75.9; 39.8; 12.0; 70.5; 16.4; 174.0; 98.2; 66.6; 72.8; 72.8; 18.0; 41.4; 46.2; 46.6; 25.6; 28.6; 28.7; 28.5; 28.9; 25.9; 31.2; 22.6; 13.9

N-(2-((2-гидроксиэтил)амино)этил)амфотерицин B (5) Выход 54 мг (25%), оранжевый порошок; Rt 15.13 мин; чистота 90%; HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$ Рассчитано для $C_{51}H_{82}N_2O_{18}^+$ 1011.5635. Найдено 1011.5624. ЯМР ^{1}H (500.23 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 2.16; 4.05; (1.33, 1.40) ;

3.53; (1.40, 1.28) ; (1.58, 1.27) ; 3.11; 3.47; (1.56, 1.34) ; 4.24; 1.53; (1.87, 1.08) ; 4.04; 1.91; 4.23; (2.00, 1.42) ; 4.34; 5.96; 6.10; 6.39; 6.25; 6.45; 6.32; 6.31; 6.32; 6.34; 6.29; 6.17; 6.17; 6.09; 5.44; 2.28; 1.04; 3.09; 1.72; 0.91; 5.21; 1.11; 4.27; 3.74; 2.27; 2.94; 3.09; 1.14; (2.83, 2.59); 2.73; 2.69; 3.51. ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 170.5; 42.0; 66.2; 44.7; 69.1; 35.0; 29.0; 73.5; 73.8; 39.6; 67.7; 46.2; 97.0; 44.5; 64.6; 57.0; 65.1; 36.3; 74.6; 136.7; 128.5; 133.4; 131.8; 133.8; 132.4; 133.1; 132.1; 133.7; 132.4; 131.8; 132.2; 131.2; 136.7; 42.4; 18.4; 77.2; 39.6; 12.0; 68.8; 16.9; 174.8; 97.0; 66.2; 62.7; 70.8; 73.1; 18.1; 44.4; 48.2; 50.6; 59.2.

N-(2-((2-гидроксиэтил)амино)этил)нистатин (6) Выход 76 мг (35%); бежевый порошок; Rt 10.97 мин; чистота 91%; HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$ Рассчитано для $C_{51}H_{82}N_2O_{18}^+$ 1013.5792. Найдено 1013.5785. ЯМР ^{1}H (500.23 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: (2.34, 2.28); 4.02; 1.48; 3.80; (1.45, 1.38); 3.60; (1.68, 1.53); 1.43; 3.22; 3.89; (1.45, 1.40); (1.88, 1.15); 3.97; 1.87; 4.01; (1.86, 1.70); 4.30; 5.77; 6.17; 6.24; 6.20; 6.22; 6.20; 6.12; 5.68; (2.17, 2.10); 2.17; 5.51; 5.96; 5.96; 5.49; 2.24; 0.97; 3.15; 1.80; 0.86; 5.07; 1.10; 4.41; 3.60; 2.39; 2.99; 3.13; 1.14; (2.84, 2.75) ; 2.83; 2.81; 3.57. ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, ДМСО-d6), δ м.д.: 170.4; 42.5; 65.7; 44.3; 68.0; 34.4; 69.4; 42.3; 28.5; 73.4; 70.2; 44.4; 97.1; 44.3; 65.6; 58.0; 66.0; 38.1; 76.0; 134.8; 129.9; 132.2; 131.1; 132.2; 132.7; 131.0; 134.1; 31.6; 31.8; 131.2; 131.0; 129.5; 135.3; 40.5; 17.0; 76.0; 40.0; 12.0; 70.3; 16.6; 175.9; 98.8; 69.4; 62.1; 70.9; 73.0; 18.2; 43.1; 47.4; 50.0; 58.0.

Тестирование противогрибковой активности

Штаммы *Candida spp*. и дерматофиты, использованные в данном исследовании, получены из лаборатории медицинской микробиологии Государственного научного центра антибиотиков (Москва, Россия). Штаммы *Candida spp*. и споры мицелиальных грибов хранили в среде с добавлением 10% (об. / об.) глицерина при -80 °C. Штамм *C. parapsilopsis* ATCC 22019 использовали в качестве контроля в каждом эксперименте. Во всех экспериментах применялась методика микроразведения *in vitro* в 96-луночных планшетах. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) была определена как самая низкая концентрация, которая приводила к полному подавлению роста после инкубации в течение 24 и 48 часов для *Candida* spp. и 48–72 часа для дерматофитов.

Тестирование *антибиопленочной активности*

Биопленки формировали в 96 луночных планшетах для иммунологических исследований в среде RPMI-MOPS (SIGMA, USA) (с глутамином и pH индикатором, без бикарбоната) с добавлением глюкозы в конечной концентрации 2%. Воздействие препаратов оценивали МТТ-тестом, сканирующей ионопроводящей микроскопией (СИМП), флуоресцентной микроскопией. Сканирование проведено на СИПМ ICAPPIC. Было получено по 5 - 10 снимков для каждой группы биопленок. Средняя высота биоплёнок измерялась как разница высот между верхним участком биопленки и высоты контакта зонда с поверхностью субстрата. На основании индентации зондом объекта построены карты деформации и рассчитано среднее значение величины индентации по центрам каждой клетки в биопленке. Флуоресцентную микроскопию осуществляли в системе визуализации EVOS m5000 с объективом 40x с соответствующими фильтрами DAPI, для PI использовали фильтры RFP, Cy5 с соответствующим возбуждением/эмиссии 355/433, 530/593, 628/685. Время экспозиции составляло 30 мс. Числовые значения экспериментальных данных группировали в таблицах Microsoft Excel и импортировали в пакет IBM SPSS Statistics v23 или OriginPro 2020. Рассчитывали среднее значение и стандартного отклонения (SD) в группе. Для оценки различий между группами применяли непараметрический анализ для парных независимых переменных Манна-Уитни. Для СИМП полученные значения были проверены по однофакторному дисперсионному анализу ANOVA (One Way Analysis of Variance). Для оценки достоверности различий использовали двусторонний t-критерий Стьюдента. Значение $P < 0{,}005$, было принято, как значимое.

Гемолиз

Свежую донорскую кровь, собранную не позднее чем за 24 часа до эксперимента, осаждали центрифугированием при 1700 об/мин в течение 5 минут. Супернатант удаляли, доводили фосфатно-солевой буферный раствор (PBS) pH 7,4 до исходного объема и трижды промывали в тех же условиях, до получения прозрачного неокрашенного супернатанта. Из отмытых клеток крови готовили 2% суспензию в PBS. В лунки планшета вносили 50 мкл суспензии эритроцитов и 50 мкл раствора исследуемого соединения. В качестве положительного контроля использовали 4% Тритон-X100, отрицательного контроля - PBS. Планшет с образцами инкубировали при 37°C в течение 60 минут. Оптическую плотность измеряли при 405 нм и рассчитывали % гемолиза относительно положительного и отрицательного контроля.

Результаты

Восстановительным аминированием амфотерицина B и нистатина было получено 4 моно-*N*-алкилированных производных **3-6**, содержащих через этиленовый линкер дополнительную аминогруппу, замещенную длинной (C10) липофильной и короткой (C2) гидрофильной алкильной цепью (рисунок 1). Чистота конечных целевых амидов полиеновых антибиотиков, определенная методом ВЭЖХ, составляла не менее 90%. Структура соединений **3-6** подтверждена методами масс-спектрометрии высокого разрешения HR-ESI и ЯМР-спектроскопией. Для полного отнесения сигналов в спектрах ^{1}H и ^{13}C проведен ряд 2D-экспериментов: ^{1}H – ^{1}H COSY, TOCSY, NOESY (ROESY), HSQC, HMBC и H2BC. Кроме того, был проведен ряд селективных экспериментов TOCSY с целью отнесения сигналов H-19, H-20, H-33 и H-34 полиеновой части молекул производных амфотерицина B и нистатина.

Противогрибковую активность новых производных исследована в отношении штаммов *Candida spp*. (*C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* 3010) и нитчатых грибков (*Aspergillus niger* 37a, *Trichophyton rubrum* 2002 и *M.canis* B-200) в сравнении с активностью исходных антибиотиков (таблица 1). Среди полученных полиенов *N*-(2-((2-гидроксиэтил)амино)этил)амфотерицина **5** B превосходил по противогрибковой активности исходный антибиотик, поэтому он был отобран для дальнейшего тестирования антибиопленочной активности.

На первом этапе была определена минимальная подавляющая концентрация (МПК) планктонных культур к тестируемым микроорганизмам *C. albicans 604M*, *C. tropicalis 56-05, C. parapsilosis 58L*, а затем определены концентрации подавления жизнеспособности биопленок на 50% ($МПКБ_{50}$) и 80% ($МКПБ_{80}$) (таблица 2). Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее исследованиями активности амфотерицина B на биопленки *Candida* spp [12].

Оценка соотношения мертвых и живых клеток в биопленках была проведена также с помощью флуоресцентного окрашивания DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол) – PI (пропидий йодид). В отличии от клеток теплокровных животных, DAPI не проникает в клетки *Candida* с неповрежденной клеточной мембраной, и окраска клеток *Candida* с помощью DAPI означает их пермеабилизацию [13]. Таким образом, характер окрашивания с помощью DAPI-PI позволяет различать живые клетки (DAPI/PI-отрицательные), поврежденные (DAPI- положительные) и мертвые (PI-положительные).

При воздействии *N*-алкилированным производным **5** в концентрации, соответствующей 1 МПК в течении 24 часов, наблюдается более интенсивная флуоресценция при окрашивании DAPI и PI, чем в случае AmB (рисунок 2).

Оценка изменения плотности живых биопленок после 24 часов инкубации с AmB и его производным в концентрации 2 мкг/мл показала, что в первом случае высота биопленки отличается от контроля на 10%, в то время как для производного этот показатель составляет

52%. Производное гораздо более эффективно природного предшественника и при воздействии на зрелые 48-ми часовые биопленки (таблица 3).

Исследование гемолитической активности *N*-(2-((2-гидроксиэтил)амино)этил)амфотерицина в сравнении с исходным антибиотиком показало, что в концентрации 10 мкг/мл AmB вызывает гемолиз 43% эритроцитов против 0% в случае производного **5**; при повышении концентрации до 20 мкг/мл воздействие AmB приводит к практически полному разрушению эритроцитов (93%), тогда как для производного этот параметр составляет 32%.

Обсуждение

Систематические исследования влияния модификации структуры полиеновых антибиотиков на их биологические свойства ведутся на протяжении нескольких десятилетий [9, 14]. Согласно анализу литературы, введение объемных заместителей в аминогруппу микозамина должно приводить к увеличению селективности противогрибкового действия полиеновых антибиотиков, при этом отмечается перспективность бис-алкилирования [11, 15], а моно-*N*-алкилированные производные амфотерицина и нистатина практически не изучены. Стоит также отметить, что антибиопленочная активность полученных ранее *N*-алкилированных производных полиенов не была описана. Проведенное исследование показало, что введение длинных липофильных заместителей в аминогруппу микозамина полиеновых антибиотиков приводит к снижению противогрибковой активности, что может быть связано с падением проникающей способности полиенов через клеточную стенку клеток грибов вследствие возрастания гидрофобности структуры. Модификация структуры полиена 2-((2-гидроксиэтил)амино)этильным фрагментом усиливает противогрибковые свойства антибиотика с одновременным заметным снижением гемолитической токсичности. Амфотерицин В, подавляя метаболическую активность культур в составе биопленок в концентрациях, близких к МПК, не приводит к значительным изменениям структуры биопленки, тогда как его *N*-алкилированное производное **5** снижает размер и плотность биопленки, т.е. вызывает ее эрадикацию. К недостаткам этого производного можно отнести сохранение цвиттер-ионного характера молекулы, что обуславливает высокую склонность к самоагрегации, ассоциированной с токсичностью для полиенов [16], и невысокой степенью растворимости в водных средах. Для устранения этих недостатков в дальнейшем целесообразно провести модификацию карбоксильной группы N-(2-((2-гидроксиэтил)амино)этил)амфотерицина В (**5**).

Заключение

Модификация структуры полиеновых антибиотиков алкилированием аминогруппы микозамина 2-((2-гидроксиэтил)амино)этильным фрагментом рекомендована для селективного усиления антифунгального действия полиеновых антибиотиков.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-20102.

Участие авторов

Омельчук О.А. – разработка синтетических методов модификации антибиотиков и протокола очистки; сбор и анализ данных, оформление рукописи; Грамматикова Н.Э. – проведение биологических исследований; Бычкова Е.Н. – синтез и очистка полусинтетических производных в количествах, необходимых для исследований; Затонский Г.В. – установление строения методами ЯМР спектроскопии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности

Авторы выражают глубокую признательность д.х.н. Тевяшовой А.Н. и д.х.н., профессору Щекотихину А. Е. за консультативную помощь в организации исследования; к.х.н. Соловьевой С. Е. и Малютиной Н. М. за ВЭЖХ-анализ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мартынова, А. В. Эпидемиологический анализ системных микозов при COVID-19 / А. В. Мартынова, О. С. Павлова, Е. П. Юсупова. – 2023. – Vol 13. – P. 326-331.
2. Pristov, K. E. Resistance of Candida to azoles and echinocandins worldwide / K. E. Pristov, M. A. Ghannoum // Clinical Microbiology and Infection. – 2019. – Vol. 25. – № 7. – P. 792-798.
3. Comparison of amphotericin B lipid complex, deoxycholate amphotericin B, fluconazole, and anidulafungin activity against Candida albicans biofilm isolated from breakthrough candidemia / L. Kraft, V. S. T. Ribeiro, G. A. Gonçalves et al. // Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica (English ed.). – 2023. – Vol. 41. – № 10. – P. 596-603.
4. Systematic review on the first line treatment of amphotericin B in critically ill adults with candidemia or invasive candidiasis. / S. Keane, P. Geoghegan, P. Povoa et al. // Expert review of anti-infective therapy. – 2018. – Vol. 16. – № 11. – P. 839-847.
5. Amir, A. Water-Soluble Nystatin and Derivative / A. Amir, M. Levin-Khalifa, T. Dvash // ACS Medicinal Chemistry Letters. – 2022. – Vol. 13. – № 2. – P. 182-187.
6. Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationship Studies of Bisamide Derivatives of Amphotericin B with Potent Efficacy and Low Toxicity / H. Ma, A. Qian, Y. Zheng et al. // Journal of Medicinal Chemistry. – 2022. – Vol. 65. – № 13. – P. 8897-8913.
7. Semisynthetic Amides of Polyene Antibiotic Natamycin. / A. N. Tevyashova, S. S. Efimova, A. I. Alexandrov et al. // ACS infectious diseases. – 2023. – Vol. 9. – № 1. – P. 42-55.
8. Reviving the interest in the versatile drug nystatin: A multitude of strategies to increase its potential as an effective and safe antifungal agent / F. Sousa, C. Nascimento, D. Ferreira et al. // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2023. – Vol. 199. – P. 114969.
9. Polyene Antibiotics Physical Chemistry and Their Effect on Lipid Membranes; Impacting Biological Processes and Medical Applications / T. Haro-Reyes, L. Díaz-Peralta, A. Galván-Hernández et al. // Membranes. – 2022. – Vol. 12. – № 7. – P. 681.
10. Amphotericin B assembles into seven-molecule ion channels: An NMR and molecular dynamics study / Y. Umegawa, T. Yamamoto, M. Dixit et al. // Science Advances. – Vol. 8. – № 24. – P. eabo2658.
11. Paquet, V. Significant Improvement of Antifungal Activity of Polyene Macrolides by Bisalkylation of the Mycosamine / V. Paquet, E. M. Carreira // Organic Letters. – 2006. – Vol. 8. – № 9. – P. 1807-1809.
12. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical Candida spp. isolates, including strains of the Candida parapsilosis complex / A. S. Melo, F. C. Bizerra, E. Freymüller et al. // Medical Mycology. – 2011. – Vol. 49. – № 3. – P. 253-262.
13. The antifungal effect of peptides from hymenoptera venom and their analogs / J. Slaninová, H. Putnová, L. Borovičková et al. // Central European Journal of Biology. – 2011. – Vol. 6. – № 2. – P. 150-159.
14. Omelchuk, O. A. Recent advances in antifungal drug discovery based on polyene macrolide antibiotics / O. A. Omelchuk, A. N. Tevyashova, A. E. Shchekotikhin // Russian Chemical Reviews. – 2018. – Vol. 87. – № 12. – P. 1206.
15. Paquet, V. Synthesis and In Vitro Biological Properties of Novel Cationic Derivatives of Amphotericin B / V. Paquet, A. A. Volmer, E. M. Carreira // Chemistry – A European Journal. – 2008. – Vol. 14. – № 8. – P. 2465-2481.
16. An Amphotericin B Derivative Equally Potent to Amphotericin B and with Increased Safety / A. Antillón, A. H. de Vries, M. Espinosa-Caballero et al. // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11. – № 9. – P. e0162171.

Таблицы

Таблица 1. Противогрибковая активность новых производных в сравнении с исходными антибиотиками

Соединение	*C.parapsilosis* ATCC 22019	*C. tropicalis* 3010	*A.niger* 37a	*T. rubrum 2002*	*M.canis* B-200
3	16.0	4.0	8.0	0.5	0.25
5	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5
AmB (**1**)	0.5-1.0	0.5	0.5-1.0	0.5	1.0
4	8.0	8.0	4.0	1.0	1.0
6	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0
Nys (**2**)	2.0	2.0	1.0	4.0	4.0

Таблица 2. Активность амфотерицина В и производного **5** при воздействии на биопленки ($МПКБ_{50}$ и $МПКБ_{80}$) и планктон (МПК) *Candida spp*

	Среднее значение МПК планктона	$МПКБ_{50}$	$МПКБ_{80}$
C. albicans 604M			
AmB (**1**)	0.5/1	1.3(±0.05)	8.9 (±0.91)
5	0.5/1	1.25 (±0.12)	5.0 (±0.45)
C. tropicalis 56-05			
AmB (**1**)	0.5/2	3.1 (±0.17)	9.3(±0.52)
5	1/2	2.2 (±0.05)	5.34 (±0.48)
C. parapsilosis 58L			
AmB (**1**)	0.5/2	1.6 (±0.06)	4.46 (±0.24)
5	1/2	1.15 (0.08)	3.7 (±0.18)

Таблица 3 – Изменение структуры 48-часовой биопленки при воздействии AmB и производного **5**

Образец	Показатель высоты биопленки (мкм), SD	Эрадикация биопленки (% от контроля)	Величина индентации клеток на верхних слоях биопленки δ (нм), SD	Снижение плотности (% от контроля)
Контроль	45±1.5	-	11.0±1.45	-
AmB (**1**)	37±1.5	17.7	13.1±2.64	1.19
5	12±1.5	73.3	61.4 ± 8.63	82

Рисунки

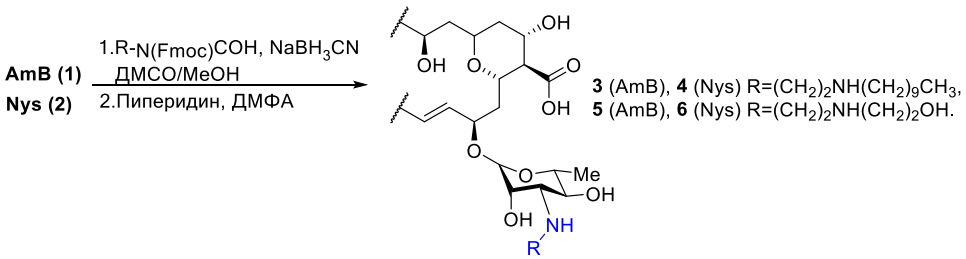


Рисунок 1. Схема химической модификации амфотерицина и нистатина

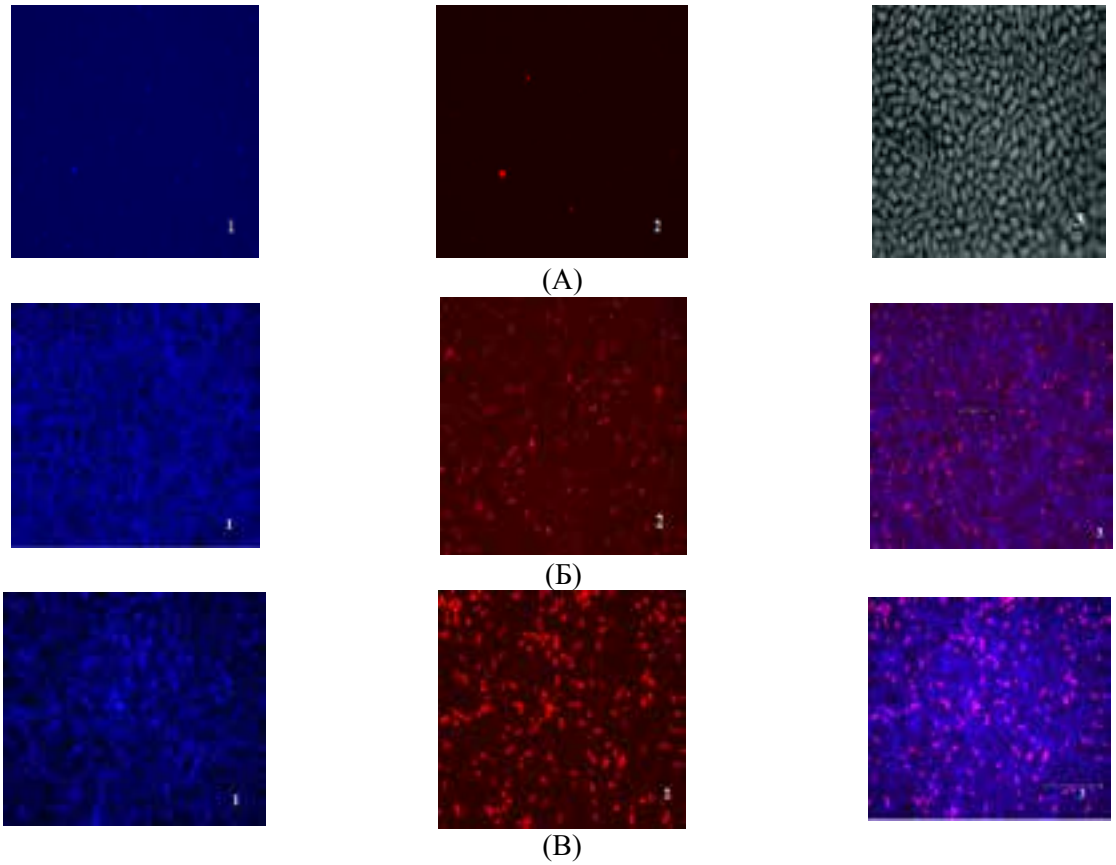


Рисунок 2. Оценка соотношения мертвых и живых клеток в биопленках методом флуоресцентной микроскопии. (А) Контрольная биопленка *Candida parapsilosis* 58L (1- DAPI, 2- PI, 3-световая микроскопия х400); (Б) Биопленка *Candida parapsilosis* 58L после 24 часов инкубации в присутствии амфотерицина В в концентрации 1 МПК (здесь и далее 1-DAPI, 2-PI, 3-наложенные изображения DAPI/PI); (В) Биопленка Candida parapsilosis 58L после 24 часов инкубации в присутствии производного **5** в концентрации 1 МПК.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Омельчук Ольга Александровна, к.х.н. [**Olga A. Omelchuk**, PhD]; адрес: Россия, 119021, Москва, улица Б. Пироговская, д.11 стр.1 [address: 11 B. Pirogovskaya street, 119021 Moscow, Russia]; телефон: 8 (915) 226-91-12; **ORCID:** 0000-0003-2433-5713; **eLibrary SPIN:** 6205-4135; **e-mail:** omelchuk@gause-inst.ru.

Соавторы:

Грамматикова Наталья Эдуардовна, к.б.н. [Natalia E. Grammatikova, PhD]; **e-mail:** ngrammatikova@yandex.ru; **ORCID:** 0000-0003-3508-231X; **eLibrary SPIN:** 9309-0240.

Бычкова Елена Николаевна [Elena N. Bychkova]; **e-mail:** e-bychkova@mail.ru; **ORCID:** -; **eLibrary SPIN:** -; **Scopus ID** 57017832800.

Затонский Георгий Валерьевич, к.х.н. [George V. Zatonsky, PhD]; **e-mail:** gzatonsk@gmail.com; **ORCID:** 0000-0001-6010-7596; **eLibrary SPIN:** 9360-8033.

СИНТЕЗ КАРБОНАТАПАТИТОВ С РАЗЛИЧНОЙ МОРФОЛОГИЕЙ ДЛЯ ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

М.П. Рындык[1,2], Е.А. Кретов[1,2]

[1]Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева РАН, Москва, Россия

[2]Национальный исследовательский университет “Высшая школа экономики”, факультет химии, Москва, Россия

Создание эффективных синтетических материалов для костной хирургии является актуальной задачей. Неорганической основой костной ткани считается гидроксиапатит (HAp). Именно поэтому HAp наряду с α- и β-трикальцийфосфатами (TCP) широко применяется для костного протезирования. Фундаментальным недостатком этих фаз является неудовлетворительная скорость резорбции, слишком высокая для TCP и слишком низкая для HAp. Возможное решение проблемы основано на использовании карбонизированных апатитов, в которых часть анионов замещена карбонат-анионами (carbonated apatite, CAp). Эти композиционно неоднородные вещества демонстрируют скорость резорбции, промежуточную между HAp и TCP и приемлемую биосовместимость. В 2017 году использование CAp было одобрено в Японии [1], однако химическая и морфологическая неоднородность CAp ограничивает перспективы их широкого применения в медицине.

Целями настоящего исследования являлись разработка метода синтеза морфологически однородного CAp, исследование особенностей его резорбции *in vitro* и *in vivo*, изучение биосовместимости. Коммерчески доступные HAp и β-TCP использованы в качестве материалов сравнения.

Взаимодействием Ca[EDTA], $NaHCO_3/Na_2CO_3$ и NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 в гидротермальных условиях при температуре 120–160 °C нами были синтезированы микроразмерные узкодисперсные карбонатапатиты пластинчатой (CAp-P) и гексагональной (CAp-H) морфологий (Рис. 1a, 1b) [2, 3]. Состав и строение полученных соединений были изучены методами XRD, FT-IR, EDX, SEM. При pH≈6 наблюдалось образование пластинчатого CAp. При pH≈9 был получен CAp в форме гексагональных призм размером 3-8 мкм с аспектным соотношением близким к 1. Все образцы CAp имели гексагональную кристаллическую решетку, пространственная группа $P6_3/m$, что подтверждено XRD (Рис. 2), отклонения в параметрах кристаллической решётки связаны с образованием CAp типа B (замещение в структуре HAp ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} на Na^+ и CO_3^{2-}). Элементные анализ и данные FT-IR показали, что все образцы CAp содержали одинаковое количество ионов Na^+ и CO_3^{2-}.

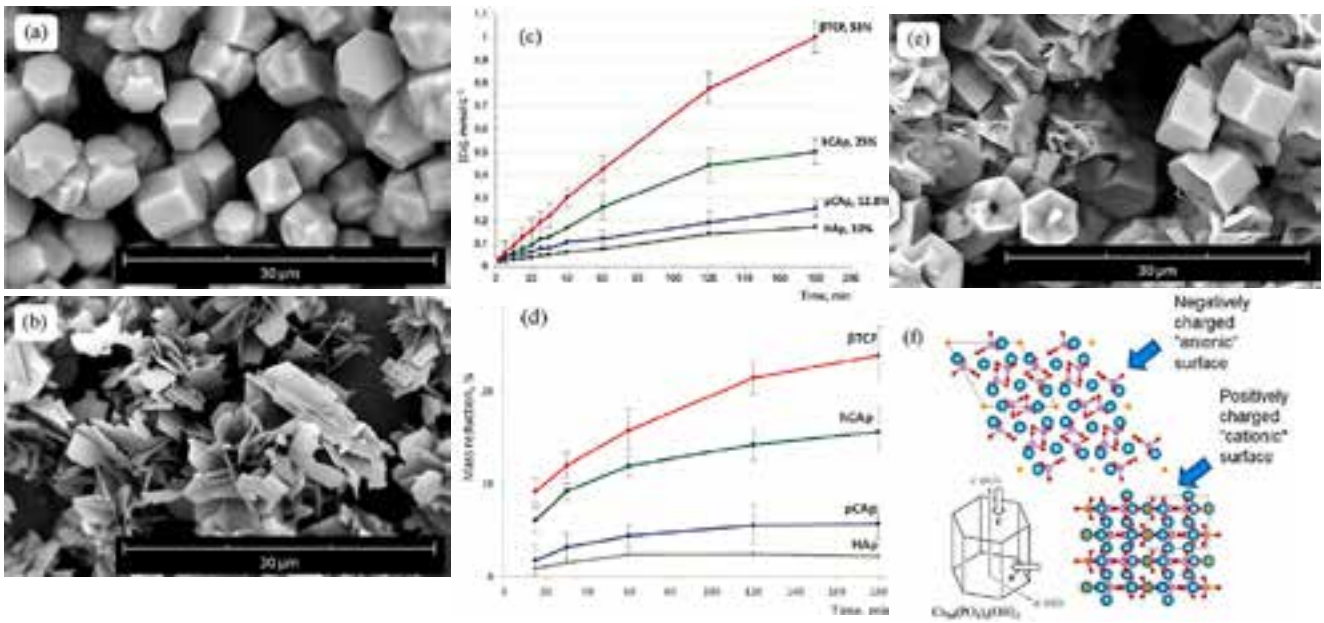


Рис. 1. Микрофотографии CAp-H (a) CAp-H (b); скорость растворения β-TCP, CAp-P, CAp-H и HAp в избытке (c) ацетатного буфера (pH = 5,5) и (d) Трис-буфера (pH = 7,3), (e) химическая анизотропия поверхностей CAp-H, (f) Схематическое изображение поверхности HAp [4]

Термохимические свойства были исследованы методами DSC и TGA. Детальный анализ методами TGA, XRD и FT-IR образцов CAp, прокаленных при 650°C, 850°C и 1000°C, выявил различия между CAp-P и CAp-H (Рис. 2). Наблюдалось, что параметры кристаллической решётки CAp обеих морфологий при прокаливании стремились к параметрам кристаллической решётки HAp. Также для обеих морфологий наблюдалось образование фазы бухвальдита ($NaCaPO_4$), однако появление эндотермических пиков DSC наблюдалось только для CAp-H. При прокаливании CAp-H при 850°C были получены кристаллы с уникальной морфологией «игральных костей», обладающие высокой скоростью поглощения воды. Морфология CAp-P в процессе прокаливания существенно не изменялась.

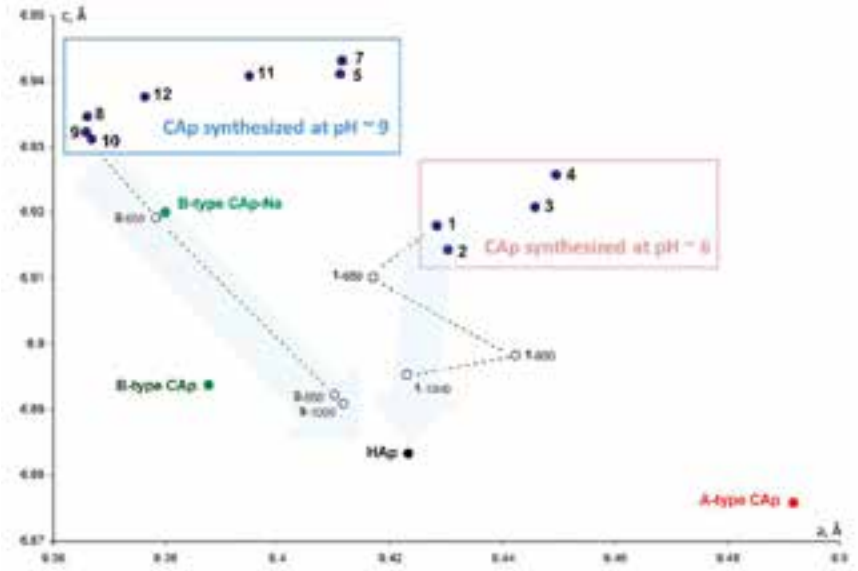


Рис. 2. Параметры кристаллической решётки CAp [2]

Было проведено исследование процесса растворения CAp *in vitro*. Был проведён сравнительный анализ CAp-H и CAp-P с коммерчески доступной кальцийфосфатной керамикой – HAp и β-TCP. В ходе экспериментов по растворению гранул фосфатов кальция в ацетатном (pH = 5,5) и Трис (pH = 7,3) буферах впервые была четко продемонстрирована химическая анизотропия поверхностей кристаллов CAp (Рис. 1e). Мы показали, что CAp-P и CAp-H демонстрируют скорость растворения *in vitro*, промежуточную между практически инертным HAp и чрезмерно активным β-TCP (Рис. 1c, 1d) [3].

Подкожная имплантация кальцийфосфатной керамики в течение пяти недель продемонстрировала следующие закономерность в изменении скоростей биорезорбции: β-TCP > CAp-P > CAp-H > HAp (Рис. 3a, 3b). Морфологические изменения в тканях, окружающих имплантаты, показали более высокую биосовместимость CAp-P по сравнению с другими видами кальцийфосфатной керамики: вокруг матрикса формировались самые тонкие и зрелые капсулы с минимальными лимфо-макрофагальной инфильтрацией и васкуляризацией (Рис. 3c-3f). По этой причине мы выбрали P-CAp для дальнейших исследований по замещению костной ткани.

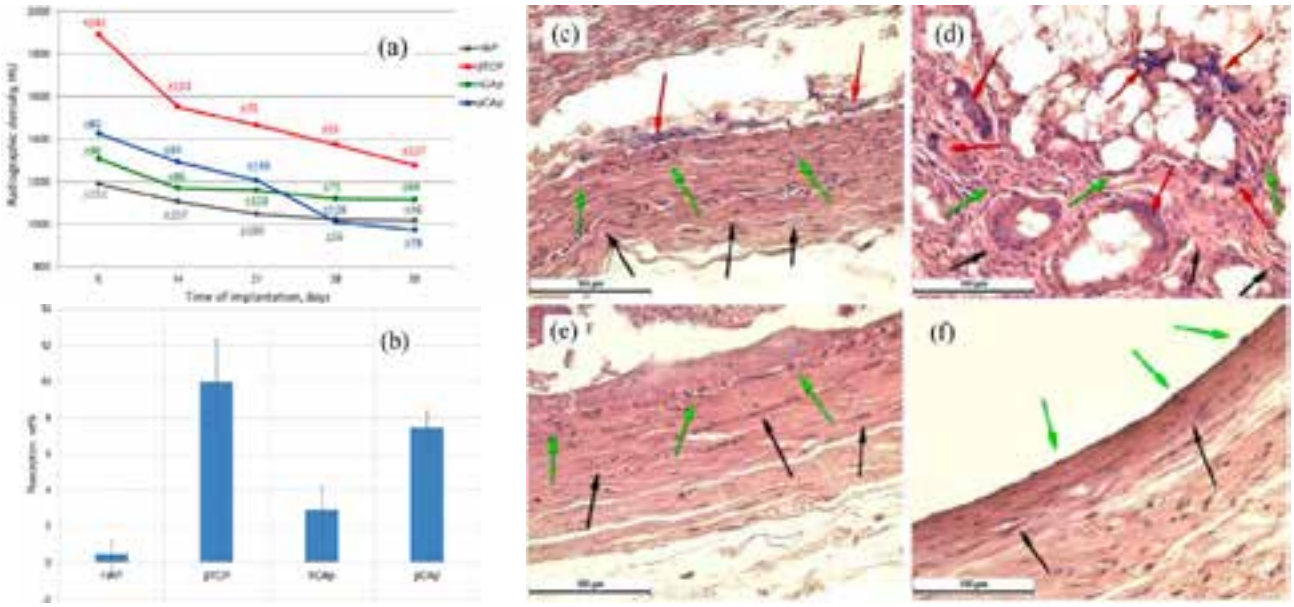


Рис. 3. (a) Изменение рентгенологической плотности матриксов в течение 6 недель, (b) относительное уменьшение массы матриксов через 5 недель после имплантации. Окрашенные гематоксилином-эозином изображения областей имплантации HAp (c), β-TCP (d), CAp-H (e), CAp-P (f). Красные стрелки – гигантские многоядерные клетки, зелёные – макрофаги, чёрные – фибробласты.

Эксперименты в костной ткани показали полную биосовместимость микроразмерного CAp-P; во время имплантации этот материал рассасывается с относительно высокой скоростью и способствует восстановлению кости. Также были получены и исследованы композитные материалы на основе CAp-P с различными полиэфирами и поликислотами. Превосходные

результаты, полученные в ходе исследования биорезорбции композитных материалов на основе CAp-P, также обсуждаются в докладе.

Результаты настоящей работы будут применены для создания отечественных имплантатов для костной хирургии и стоматологии

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант 21-73-30010.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hayashi, K.; Kishida, R.; Tsuchiya, A.; Ishikawa, K. Granular Honeycombs Composed of Carbonate Apatite, Hydroxyapatite, and *β*-Tricalcium Phosphate as Bone Graft Substitutes: Effects of Composition on Bone Formation and Maturation. *ACS Appl. Bio Mater.* 2020, *3*, 1787−1795
2. Nifant'ev, I. E.; Tavtorkin, A.; Legkov, S. A.; Korchagina, S. A.; Shandryuk, G. A.; Kretov, E. A.; Dmitrienko, A. O.; Ivchenko, P. V. Hydrothermal synthesis of perfectly shaped micro- and nanosized carbonated apatite. *Inorg. Chem. Front.* 2021, *8*, 4976−4989
3. Nifant'ev I.E. Tavtorkin A.N., Ryndyk M.P., Gavrilov D.E., Lukina Y.S., Bionyshev-Abramov L.L., Serejnikova N.B., Smolentsev D.V., and Ivchenko P.V. Crystalline Micro-Sized Carbonated Apatites: Chemical Anisotropy of the Crystallite Surfaces, Biocompatibility, Osteoconductivity, and Osteoinductive Effect Enhanced by Poly(ethylene phosphoric acid). *ACS Appl. Bio Mater*. 2023, *6*, 1, 5067–5077
4. Okada, M.; Matsumoto, T. Synthesis and modification of apatite nanoparticles for use in dental and medical applications. *Japan Dent. Sci. Rev*. 2015, *51*, 85–95

БОЛЕЗНИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Бехтерев Владимир Михайлович (1857–1927)

«Поток сознания индивидуума борется со внушаемыми идеями, как организм с бактериями, стремящимися разрушить устойчивость равновесия.»

ВЛИЯНИЕ ПСИХОФАРМАКОТЕРАПИИ НА ДИНАМИКУ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ С КОМОРБИДНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОГО СПЕКТРА

А.А. Абрамкин[1], Т.А. Лисицына[1], Д.Ю. Вельтищев[2,3]

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия

[2]Московский научно-исследовательский институт психиатрии – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия

[3]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования – оценить динамику умеренных когнитивных нарушений (УКН) у больных ревматоидным артритом (РА) с коморбидными расстройствами тревожно-депрессивного спектра (РТДС) в зависимости от назначения психофармакотерапии (ПФТ). Определить факторы, связанные с отсутствием/регрессом УКН через 5 лет.

Материал и методы

Включены 128 пациентов с достоверным РА, все обследованы психологом и психиатром исходно и через 5 лет. Диагностика УКН (нарушения памяти и/или логического мышления) проводилась клиническим психологом с использованием патопсихологических и проективных методик. РТДС выявлены у 123 пациентов, всем была предложена индивидуально подобранная ПФТ (преимущественно сертралин, агомелатин, миансерин). Из 123 пациентов 71 отказались от ПФТ (1-я группа, стандартная терапия РА – базисные ± генно-инженерные препараты), 52 – согласились (2-я группа, стандартная терапия РА+ПФТ). Длительность ПФТ колебалась от 6 до 96 нед.

Результаты

Исходно УКН диагностированы у 69% в 1-й и 78,9% во 2-й группах. Через 5 лет данные по УКН получены для 42 больных из 1-й группы (без ПФТ) и 32 из 2-й (ПФТ). Во 2-й группе доля больных с УКН снизилась до 60,9% ($p>0,05$), в 1-й – возросла до 85,7% ($p=0,037$), ОР между группами 1,93, $p=0,021$. Не выявлено регресса нарушений логического мышления.

С желательным исходом УКН (отсутствие УКН на протяжении всего исследования, n=9, или положительная динамика УКН через 5 лет, n=7) отрицательно ассоциировались исходно

большая депрессия (ОШ 0,19, 95%ДИ 0,035 – 1,05, p=0,057) и активность РА по DAS28 (ОШ 0,75, 95%ДИ 0,62 – 0,91, p=0,004), положительно ассоциировалась ремиссия симптомов РТДС через 5 лет (ОШ 5,22, 95%ДИ 1,43 – 19,1, p=0,12).

Заключение

ПФТ РТДС у больных РА оказывает положительное влияние на функцию памяти и предотвращает развитие новых УКН, нарушения логического мышления требуют иных подходов к терапии.

НОВЫЕ МАРКЕРЫ АБЕРРАНТНОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО АНГИОГЕНЕЗА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А.С. Аверчук, М.В. Кукла, Н.А. Розанова, А.Б. Салмина

Научный центр неврологии, Москва, Российская Федерация

Обоснование

При нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера (БА), церебральный ангиогенез – неотъемлемый компонент пластичности головного мозга – подвергается значительным изменениям и проявляется в виде ремоделирования микрососудов, о чем свидетельствуют многочисленные исследования [1]. Между тем, в научной литературе встречается намного меньше работ, посвященных регрессии и аберрантному развитию микрососудов в головном мозге. Учитывая, что ингибирование механизмов инволюции микрососудов и модуляция сигнальных путей аберрантного ангиогенеза может стать перспективной диагностической стратегией при нейродегенеративных заболеваний, изучение механизмов патологической регрессии микрососудов головного мозга является крайне актуальной задачей.

Целью исследования стало изучение субпопуляционного состава клеток церебрального эндотелия и ремоделирования микрососудов головного мозга животных в модели нейродегенерации альцгеймеровского типа.

Методы

Моделирование болезни Альцгеймера in vivo выполняли по стандартному протоколу. Стереотаксические операции анестезированным животным (мыши-самцы C57BL/6) проводили с помощью манипулятора (Stoelting, США). В соответствии с координатами атласа мозга мышей (AP – 2,0; ML – 1,9; DV – 1,3) билатерально просверливали в черепе животного отверстия для введения в поле CA1 гиппокампа 2 мкл 1mM раствора олигомеризованного бета-амилоида Aβ [25-35] (Sigma-Aldrich Co., США) в 0,9% NaCl для экспериментальной группы животных (n=39) и раствор 0,9% NaCl в том же объеме для контрольной (n=34).

Для тестирования когнитивных функций животных использовали тест условно-пассивного избегания (УРПИ) на установке (Panlab Harvard Apparatus, Испания) по стандартному протоколу: 1 сутки - обучение (шок – неизбегаемый аверсивный стимул), 7 и 28 сутки после обучения (для животных с интрагиппокампальным введением Aβ это соответствовало 10, 17 и 38 суткам от начала нейродегенерации). Через 1 час после тестирования производился забор биоматериала.

Иммуногистохимический анализ на срезах головного мозга производился с помощью первичных (в части экспериментов – меченых флуорофорами) и соответствующих вторичных, меченых флуорофорами, антител (производства ABClonal, Affinity, FineTest, Novus Biologicals). Антитела подбирались в соответствии с видоспецифичностью и наносились согласно протоколам, рекомендуемым производителем. Оценивали маркеры аберрантного ангиогенеза (соотношение экспрессии и коэкспрессия CD31 и CLDN5), маркеров субпопуляций клеток эндотелия (tip-cells (Dll4, VEGFR2, CXCR4); stalk-cells (Tie1, Notch, Ki-67); phalanx-cells (Flt1/VEGFR1).

Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Statistica 13.3 (StatSoft, Inc). Данные обрабатывали с помощью критерия U-теста Манна-Уитни. Результаты считали значимыми при $p<0,05$.

Этическая экспертиза. Исследования одобрены Локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол №5-3/22 от 01.06.2022 г.).

Результаты

В результате проведенных исследований были получены данные об особенностях экспрессии маркеров субпопуляций эндотелиоцитов (tip-, stalk-, phalanx-клеток) церебральных микрососудов при экспериментальной БА в различных регионах мозга животных: SGZ – субгранулярная зона гиппокампа; SVZ – субвентрикулярная зона; PFC – префронтальная кора; ERC – энторинальная кора.

Тест УРПИ подтвердил динамику формирования когнитивного дефицита у животных с Аβ-моделью к 38 суткам нейродегенерации (28 сутки после обучения) когда манифестируется когнитивный дефицит, что соответствует продолжительности постнатального нейрогенеза [2].

На 28 сутки после применении аверсивного раздражителя у контрольных животных зафиксировано увеличение числа tip-клеток (CXCR4/DLL4/VEGFR2-иммунопозитивные клетки) в PFC одновременно со снижением количества stalk-клеток (TIE1/Ki-67/NOTCH-иммунопозитивные клетки), в остальных зонах количество пролиферирующих stalk-клеток стремительно увеличивается в динамике, что отражает феномен латерального ингибирования. Зафиксировано, что у контрольных животных и животных с экспериментальной БА к началу проявления когнитивного дефицита наблюдается обратная разнонаправленная зависимость между tip- и stalk- клетками в SGZ гиппокампа и PFC головного мозга. Количество VEGFR1/Flt1+ phalanx-клеток у экспериментальных животных во всех исследуемых регионах мозга сокращено по сравнению с контролем к 28 суткам. Такая усиленная экспрессия маркеров ангиогенеза при БА свидетельствует о дефиците перфузии церебрального микроциркуляторного русла из-за непродуктивного ангиогенеза [3].

Зрелость церебральных сосудов оценивали по количеству CD31/PECAM1+CLDN5+ клеток, необходимых для функционирования ГЭБ [4]. Число зрелых эндотелиоцитов у животных контрольной группы после обучения и до появления признаков когнитивного дефицита в SGZ гиппокампа стабильно, в SVZ и ERC – увеличивается, а в PFC – снижается, в отличие от экспериментальных животных где отмечается снижение числа зрелых клеток в SVZ и PFC.

Доля клеток, экспрессирующих CLDN5 (маркер плотных контактов), из общего числа CD31 в SGZ гиппокампа головного мозга животных контрольной группы прогрессивно уменьшается к моменту манифестации когнитивного дефицита, а SVZ – изменения незначительны. У животных с Aβ-моделью исходное количество незрелых клеток эндотелия в SGZ выше, а в SVZ ниже, на 28 стуки после применения аверсивного раздражителя наблюдается в перечисленных нейрогенных нишах высокая доля незрелых клеток церебрального эндотелия.

Обсуждение

Приобретая tip-фенотип, клетки церебрального эндотелия вызывают Dll4/Notch/VEGFR2-опосредованное латеральное ингибирование, формируя условия для развития пула stalk-клеток, и, согласно нашим исследованиям, а именно установленное соотношение tip- и stalk-клеток, этот механизм в нейрогенных нишах у животных с экспериментальной БА нарушен [5]. В совокупности с полученными нами ранее результатами [6] об аберрантной митохондриальной динамике и аутофагии клеток эндотелия, особенностях экспрессии клеток маркеров зрелости эндотелиоцитов, это означает, что ремоделирование микроциркуляторного русла и неоангиогенез при БА не соответствует потребностям индуцированного аверсивным раздражителем нейрогенеза, тем самым затрудняет реализацию пластичности головного мозга. Таким образом, при нейродегенерации альцгеймерского типа нарушаются процессы приобретения клетками церебрального эндотелия фенотипа, необходимого для эффективного формирования ГЭБ. Маркерами такого непродуктивного ангиогенеза при опыт индуцированной пластичности являются нарушения субпопуляционного клеточного состава, а именно увеличение функционально незрелых церебральных эндотелицитов.

Заключение

Полученные нами результаты впервые демонстрируют, что развитие нейродегенеративного процесса у животных с экспериментальной БА типа ассоциировано с нарастанием процессов неоангиогенеза, неравномерно происходящем в разных нейрогенных

нишах, что вызывает нарушение механизмов обучения и способствует развитию неврологических патологий. Основной вклад в реализацию пластичности головного мозга как в норме, так и при нейродегенерации вносит ангиогенез, происходящий не только в SGZ, но и в SVZ. Процессы ангиогенеза, вызванные индуцированной нейродегенерацией связана с нарушением баланса соотношением клеток tip-, stalk-, phalanx-фенотипа и процессов созревания клеток эндотелия, выражающаяся в изменение соотношения маркеров CD31/PECAM1 и CLDN5

Исследование выполнено при поддержке РНФ (грант № 22-15-00126; https://rscf.ru/project/22-15-00126).

ЛИТЕРАТУРА

1. Crouch EE, Joseph T, Marsan E, Huang EJ. Disentangling brain vasculature in neurogenesis and neurodegeneration using single-cell transcriptomics. *Trends Neurosci.* 2023;46(7):551-565. doi: https://10.1016/j.tins.2023.04.007
2. Vaz A, Ribeiro I, Pinto L. Frontiers in Neurogenesis. *Cells*. 2022;11(22):3567. doi: https://10.3390/cells11223567
3. Alvarez-Vergara MI, Rosales-Nieves AE, March-Diaz R, Rodriguez-Perinan G et al. Non-productive angiogenesis disassembles Aß plaque-associated blood vessels. *Nat Commun*. 2021;12(1):3098. doi: https://10.1038/s41467-021-23337-z
4. Hashimoto Y, Greene C, Munnich A, Campbell M. The CLDN5 gene at the blood-brain barrier in health and disease. *Fluids Barriers CNS*. 2023;20(1):22. doi: https://10.1186/s12987-023-00424-5
5. Koon YL, Zhang S, Rahmat MB, Koh CG et al. Enhanced Delta-Notch Lateral Inhibition Model Incorporating Intracellular Notch Heterogeneity and Tension-Dependent Rate of Delta-Notch Binding that Reproduces Sprouting Angiogenesis Patterns. *Sci Rep.* 2018;8(1):9519. doi: https://10.1038/s41598-018-27645-1
6. Аверчук А.С., Рязанова М.В., Баранич Т.И., Ставровская А.В., и др. Нейротоксическое действие бета-амилоида сопровождается изменением митохондриальной динамики и аутофагии нейронов и клеток церебрального эндотелия в экспериментальной модели болезни Альцгеймера // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2023. – Т. 175. - № 3. – С. 2 – 8. [Averchuk AS, Ryazanova MV, Baranich TI, Stavrovskaya AV, et al. The neurotoxic effect of beta-amyloid is accompanied with changes in the mitochondrial dynamics and autophagy in neurons and brain endothelial cells in the experimental model of Alzheimer's disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2023;175(3):2-8. (In Russ.)]

БИОМАРКЕРНЫЙ ПРОФИЛЬ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

В.А. Аннушкин

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Обоснование: Атеросклероз – хроническое мультифакториальное заболевание, характеризующееся обменными нарушениями и сопровождающееся поражением стенки артерий эластического и мышечно-эластического типа. С целью диагностики того или иного патологического действия на сегодняшний день все чаще используются биомаркеры - объективно измеряемые показатели различных процессов. За последние три десятилетия было определено немалое количество потенциально проатерогенных/атеропротективных биомаркеров крови.

Цель исследования: оценка изменения биомаркерного профиля церебрального атеросклероза

Методы: было включено 100 пациентов с установленным диагнозом цереброваскулярное заболевание (ЦВЗ) на фоне атеросклероза сосудов головного мозга. Стенозы внутренней сонной артерии были подтверждены с помощью дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий головы (ДС БЦА). Выполнены общесоматический и неврологический осмотр, магнитно-резонансная томография головного мозга, ДС БЦА и лабораторные исследования биомаркеров атерогенеза. Подобные исследования выполнялись дважды – до и через 1 год наблюдения.

Результаты: Исходно у всех пациентов наблюдалось повышение проатерогенного сдвига изучаемых показателей крови, преимущественно показателей деградации внеклеточного матрикса, воспаления и биомаркеров, ассоциированных с атерогенезом (в том числе остеопротегерина и орозомукоида). При контрольном исследовании у подгруппы пациентов с прогрессированием церебрального атеросклероза были отмечены значимые изменения по ряду показателей в отличии от подгруппы без прогрессирования. Увеличение степени стеноза ВСА у пациентов при проспективном наблюдении ассоциировано как с клиническим прогрессированием ЦВП, так и с большим исходным уровнем концентрации ряда показателей, характеризующих атерогенез и воспаление (липопротеин (а), MMP-1, MMP-9, TIMP-1, орозомукоид, остеопротегерин). Разработанная биомаркерная шкала прогнозирования индивидуального риска прогрессирования церебрального атеросклероза (на основе определения: АТ-адр, АТ-АДФ, ФГ, ОХ, ТГ, ЛПНП, Lp-PLA2, Lp (a), MMP-1, MMP-9, TIMP-1, ORM, OPG, ADPN) с рассчитанными пороговыми значениями позволяет сформировать персонифицированный подход к диагностике и лечению, обеспечивая точность прогноза до 85,6% (площадь по кривой >0,8).

Заключение: Определение основных биомаркеров и их целевых цифр, изменяющихся при прогрессировании атеросклероза, может позволить быстрее реагировать для изменения медикаментозной терапии направленной на профилактику сосудистых заболеваний головного мозга, а также использоваться как плацдарм для разработки таргетной терапии.

Ключевые слова: Атеросклероз, ишемический инсульт, биомаркеры, воспаление, эндотелиальная дисфункция.

Сведения об авторе

Аннушкин Владислав Александрович — врач-невролог 1-го неврологического отделения и группы сосудистой и эндоваскулярной хирургии Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия [Vladislav A. Annushkin — neurologist, 1st Neurological department and Group of vascular and endovascular surgery, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia], https://orcid.org/0000-0002-9120-2550; e-mail: annushkin@neurology.ru; тел. 8-963-636-70-96

ВИДЕООКУЛОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ПОЗДНИХ МОЗЖЕЧКОВЫХ АТАКСИЙ

А.И. Белякова-Бодина (Alexandra Igorevna Belyakova-Bodina)

ФГБНУ Научный Центр Неврологии

Глазодвигательные нарушения - частые симптомы широкого спектра неврологических заболеваний, в том числе поздних мозжечковых атаксий.

Методика видеоокулографии (ВОГ) является неинвазивным методом, позволяющим количественно оценить глазодвигательную функцию, что помогает уточнить топический диагноз, облегчить нозологическую диагностику неврологических заболеваний. На сегодняшний день ВОГ-исследование проводится преимущественно в научных целях, рутинно применяясь лишь в области отоневрологии. Нами была проведена ВОГ у 100 пациентов с поздней мозжечковой атаксией различной этиологии, включая генетически верифицированные синдром CANVAS, спиноцеребеллярные атаксии различных типов, POLG-ассоциированные атаксии, болезнь Ниманна-Пика типа С, мультисистемную атрофию типа С и другие. Пациентам проводилось ВОГ-исследование с использованием EyeSeeCam Sci system (EyeSeeTec GmbH, Мюнхен, Германия).

Проводились следующие тесты: вертикальные и горизонтальные рефлекторные саккады, плавное слежение, вертикальные и горизонтальные произвольные саккады, тест на фиксацию взора, тест с устранением фиксации взора, тест на подавление вестибулоокулярного рефлекса, видеопроба Хальмаги в плоскости горизонтальных полукружных каналов. Только 1% обследованных не имел патологических изменений движений глаз по данным ВОГ.

Лишь у 10,2% обследованных не было выявлено нарушений плавного слежения, что позволяет предположить, что данный тест обладает наибольшей чувствительностью.

У 7,5% пациентов отмечались те или иные нарушения во всех проведенных тестах.

У 38,4% пациентов была зарегистрирована двусторонняя симметричная вестибулопатия по данным видеопробы Хальмаги, что указывает на относительно высокую распространённость состояний, характеризующихся сочетанием мозжечковой атаксии и билатеральной вестибулопатии. Таким образом, ВОГ исследование показало себя как чувствительное в отношении детекции глазодвигательных нарушений у пациентов с нарушением функции мозжечка.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЛАНДШАФТ ДЕТСКОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПАРАЛИЧА

И Д.В.

ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России, г. Хабаровск

Введение

Детский церебральный паралич (ДЦП) – это этиологически разнообразная группа состояний, характеризующихся нарушением моторных функций с ранней манифестацией. Частота ДЦП составляет 2–3 случая на 1000 живорожденных [1, 2]. У 30,0–40,0 % пациентов с ДЦП определить этиологическую природу не представляется возможным [3]. При этом нормальные результаты МРТ головного мозга имеются у 15,0 % детей с ДЦП, а у 18,0 % – неспецифичны для данного заболевания [4]. Вероятно, эта группа пациентов может включать случаи генетически обусловленных заболеваний, представляющие фенокопии ДЦП.

Уже более 50 лет известно, что некоторые пациенты с клиническими проявлениями ДЦП имеют генетическую патологию [5,6], но долгое время такие случаи считались редкими и единичными. Исследования серий пациентов с типичным ДЦП показывают, что не менее 4,0 % имеют вариации числа копий (copy number variation, CNV) и 14,0 % – однуклеотидные варианты (single nucleotide variant, SNV) [7].

Актуальной проблемой современной педиатрии и неврологии является увеличение числа больных с ДЦП. Текущий стандарт медицинской помощи для диагностики ДЦП включает многочисленные клинические оценки специализированными врачами и бесчисленные параклинические исследования – этот длительный и утомительный традиционный подход оставляет примерно половину семей без точного диагноза. Несмотря на обновление стандартов ведения беременных и наличия спектра имеющихся методов терапии в перинатальной периоде новорожденных являются до сих пор малоэффективными, что можно связать с недостаточным уровнем знаний о молекулярных механизмах развития ДЦП. Знание причины ДЦП у конкретного пациента крайне важно для разработки инновационных технологий лечения в рамках данного заболевания.

Цель исследования – анализ особенностей мутационного профиля генома у пациентов с ДЦП в российской популяции для оптимизации алгоритмов диагностики, персонализированного ведения пациентов и подходов медико-генетического консультирования в отягощенных семьях.

Материалы и методы

Анализировались данные клинико-генеалогического анамнеза, неврологического осмотра, результатов молекулярно-генетических исследований (полное секвенирование генома и экзома). В исследование были включены 178 пациентов с ДЦП в возрасте 4,0 ± 0,4 года. После анализа с применением критериев исключения (при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга были обнаружены четкие признаки перенесенной перинатальной перивентрикулярной лейкомаляции, оценка при рождении по шкале Апгар была ниже 7 баллов на 1 минуте, наличие родственников с ДЦП) была сформирована основная выборка для проведения полного секвенирования генома или экзома в которую вошли 70 пациентов с неуточненной этиологией ДЦП.

Геномная ДНК выделена методом лизиса клеток с последующей очисткой на стекловолоконных фильтрах, затем использована для приготовления геномных библиотек для массового параллельного секвенирования. Далее было проведено определение их нуклеотидной последовательности на секвенаторе (HiSeq 1500, Illumina). Медианное покрытие генома составило 43х. Далее был проведен поиск однонуклеотидных полиморфизмов и малых инсерций и делеций. Выявленные варианты были классифицированы на основании стандартов и рекомендаций ACMG по интерпретации полиморфизмов. Для подтверждения вариантов, выявленных в результате полногеномного секвенинирования, и оценки сегрегации в семье использовался метод секвенирования по Сэнгеру трио.

Обработка данных проводилась в пакетах IBM SPSS Statistics. Количественные данные описывались с помощью среднего, стандартного отклонения. Качественные данные были представлены в виде частот и процентов. Качественные данные были представлены в виде частот и процентов. При нормальном распределении признака, рассчитывались среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (± SD).

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетическую причину болезни удалось установить у 74,3% пациентов с ДЦП, что превышает в 2 раза мировые данные по информативности молекулярно-генетических методов для выявления причин данной группы болезней и составляет от 14,0 до 32,7% [8, 9; 10, 11, 12].

При клиническом анализе обнаруженных патогенных вариантов были ассоциированы 67,3 % с моногенными заболеваниями и 32,7 % с микроделеционными и микродупликационными синдромами. Обнаруженные моногенных заболевания у пациентов с ДЦП имели преимущественно аутосомно-доминантный тип наследования – 48,6 % от всех пациентов с генетической причиной, с аутосомно-рецессивным – 37,1 %, с Х-сцепленным – 14,3 %. Среди обнаруженных

патогенных вариантов чаще обнаруживались SNV – 75,6 %, делеции и дупликации обнаруживались в 14,6 % и 9,8 % соответственно. У пациентов с моногенными заболеваниями выявлены патогенные варианты в 34 различных генах, из них более половины вариантов выявлены впервые в российской популяции (табл. 1).

Таблица 1. Распределение генетических вариантов ДЦП

Ген	**Число пациентов**	**Заболевание**
MECP2	2	Синдром Ретта
WDR45	1	Нейродегенеративное заболевания с накоплением железа в мозге 5 типа
NPC1	1	Болезнь Ниманна-Пика тип С
SYNJ1	1	Энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия 53 типа
HNRNPU	1	Энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия 54 типа
DNM1	1	Энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия 31А типа
VAMP2	1	Нарушение нейропсихического развития с гипотонией, аутистическими признаками с гиперкинезами или без них
ADAR	1	Синдром Айкарди-Гутьерес 6 типа
CEP290	1	Синдром Жубера 5 типа
PMM2	1	Врожденное нарушение гликозилирования тип 1А
UBE3A	1	Синдром Ангельмана
GALC	1	Болезнь Краббе
CTNNB1	1	Нарушение нейропсихического развития со спастической диплегией и дефектами зрения
PRRT2+ COL1A1	1	Сочетание доброкачественных несемейных инфантильных приступов 2 типа с несовершенным остеогенезом 1типа
ATM	1	Синдром Луи-Бар
DMD	1	Миодистрофия Дюшенна
SLC2A1	1	Синдром дефицита транспортера глюкозы I типа
ALDH7A1	1	Пиридоксин-зависимая неонатальная эпилепсия
SGSH	1	Мукополисахаридоз IIIA типа
PIGN	1	Синдромом множественных врожденных аномалий, гипотонии и судорог 1 типа
ARID2	1	Синдром Коффина–Сириса 6 типа
PURA	1	Нарушение нейропсихического развития с неонатальной респираторной недостаточностью, гипотонией и трудностями с кормлением
GCDH	1	Глутаровая ацидурия 1 типа
GFAP	1	Болезнь Александера
PNKP	1	*PNKP*-ассоциированное нарушение нейропсихического развития
SYNGAP1	1	Аутосомно-доминантное нарушение интеллектуального развития 5 типа
KCNQ2	1	Энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия 7 типа

GATAD2B	1	GAND-синдром
MEF2C	1	Нарушение нейропсихического развития с гипотонией, стереотипными движениями рук и нарушением речи
GRIA3	1	*GRIA3*-ассоциированная эпилептическая энцефалопатия
TUBA1A	1	Лиссэнцефалия 3 типа
AP4B1	1	Спастическая параплегия 47 типа
POLG	1	Синдром Альперса-Хуттенлохера
SETBP1	1	Аутосомно-доминантное нарушение интеллектуального развития 29 типа

Возраст пациентов на момент получения точного молекулярного диагноза был 3,6±0,3 года, то есть семьи пребывали в «диагностической одиссее» более 3 лет, что отягощало прогноз пациентов и было невозможно персонализированное медико-генетическое консультирование для профилактики повторных случаев в семье. По результатам исследования прогнозируется, что 34,6 % семей имеют возможность первичной профилактики рождения детей с генетическими формами ДЦП при прохождении медико-генетического консультирования с проведением скрининга на носительство наследственных заболеваний и предимплантационного тестирования.

Проведение молекулярно-генетических методов обследования показано пациентам с ДЦП, у которых при МРТ головного мозга не обнаруживается признаков перинатальной патологии, присутствует несоответствие между перинатальным анамнезом и результатами МРТ головного мозга.

Заключение

Таким образом, ДЦП является собирательным, нежели диагностическим понятием, объединяющим разнообразные генетические заболевания. Это создает большие трудности в менеджменте данных пациентов. Патогенные варианты во многих различных генетических локусах могут вызывать фенотип, подобный ДЦП. У значительной части пациентов под маской ДЦП кроется генетическое заболевание. Представляется вероятным, что по мере обследования большего числа пациентов, а также совершенствования биоинформатики и клинической интерпретации геномных данных будут выявлены дополнительные генетические причины ДЦП. Использование полученных данных по спектру генов, вовлеченных в генетически гетерогенную этиологию ДЦП, позволяет разрабатывать панели генов, информативность которых приближается к экзомному и геномному секвенированию. А также требует междисциплинарного подхода к данной группе пациентов.

Получение молекулярно-генетического диагноза завершает дорогостоящую, время затратную и эмоционально истощающую «диагностическую одиссею» для многих семей. Точный молекулярно-генетический диагноз необходим для персонализированной таргетной терапии и медико-генетического консультирования с целью профилактики повторных случаев в семье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Korzeniewski S.J., Slaughter J., Lenski M. et al. The complex aetiology of cerebral palsy // Nat. Rev. Neurol. – 2018. – Vol. 14. – № 9. – P. 528–43. DOI: 10.1038/s41582-018-0043-6

2. Novak I., Morgan C., Adde L. et al. Early, accurate diagnosis and early intervention in cerebral palsy: advances in diagnosis and treatment // JAMA Pediatr. – 2017. – Vol. 171. – № 9. – P. 897–907. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2017.1689

3. Fahey M.S., Maclennan A.H., Kretzscmar D. et al. The genetic basis of cerebral palsy // Dev. Med. Child Neurol. – 2017. – Vol. 59. – № 5. – P. 462-469. DOI: 10.1111/dmcn.13363

3. Friedman J.M., van Essen P., van Karnebeek C.D.M. Cerebral palsy and related neuromotor disorders: Overview of genetic and genomic studies // Mol Genet Metab. – 2022. – Vol. 137. – № 4. – P. 399-419.

5. Sjogren T., Larsson T. Oligophrenia in combination with congenital ichthyosis and spastic disorders; a clinical and genetic study // Acta Psychiatr. Neurol. Scand. Suppl. – 1957. – №113 – P. 1-112.

6. Lesch M., Nyhan W.L. A familial disorder of uric acid metabolismand central nervous system function // Am. J. Med. – 1964. – №36. – P. 561-570.

7. Stefanski A., Calle-López Y., Leu C. et al. Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis // Epilepsia. – 2021. – № 62. – P. 143–151.

8. MacLennan A.H., Thompson S.C., Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants // Am J Obstet Gynecol. – 2015. – Vol. 213. – № 6. – P. 779-788. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.034

10. Chopra M., Gable D.L., Love-Nichols J. et al. Mendelian etiologies identified with whole exome sequencing in cerebral palsy // Ann Clin Transl Neurol. – 2022. – Vol. 9. – № 2. – P. 193-205. DOI: 10.1002/acn3.51506

9.Moreno-De-Luca A., Millan F., Pesacreta D.R. et al. Molecular diagnostic yield of exome sequencing in patients with cerebral palsy // JAMA. – 2021. – Vol. 325. – № 5. – P. 467-475. DOI: 10.1001/jama.2020.26148

11. Gonzalez-Mantilla P.J., Hu Y., Myers S.M. et al. Diagnostic yield of exome sequencing in cerebral palsy and implications for genetic testing guidelines: a systematic review and meta-analysis // JAMA Pediatr. – 2023. – Vol. 177. – № 5. – P. 472-478. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2023.0008

12. Pavelekova P., Necpal J., Jech R. et al. Predictors of whole exome sequencing in dystonic cerebral palsy and cerebral palsy-like disorders // Parkinsonism Relat Disord. – 2023. – Vol. 111. – P. e105352. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2023.105352

МИР МАЛЫХ МОЛЕКУЛ: ОТ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ К ЦИФРОВЫМ ДВОЙНИКАМ

Н.А. Колотьева[1,4], Ф.Н. Гильмиярова[2], Е.С. Иллариошкина[3], Н.П. Крючков[4]

[1]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», Москва, Российская Федерация

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Российская Федерация

[3]Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города Москвы «Школа № 1253»

[4]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Москва, Российская Федерация

В последние годы все больше внимания уделяется изучению малых молекул – низкомолекулярных органических соединений с молекулярной массой от 40 до 1000 Да, которые являются метаболическими интермедиатами, могут выполнять роль регуляторных лигандов и сигнальных молекул. Они составляют большую часть молекул в клетках, реализуя свои функции посредством взаимодействия с макромолекулами, чаще всего с белками, играя центральную роль в регуляции экспрессии генов, передаче сигнала [1], активности ферментов [2], сборке белковых комплексов [3]. Единичные публикации об изучении межмолекулярных взаимодействий белков с малыми молекулами начали появляться только в 2009 году благодаря выходу систематических обзоров по данной теме [4]. В настоящее время наши знания о роли малых молекул в межмолекулярных процессах все больше пополняются, однако работы по изучению взаимодействий белок-метаболит имеют разрозненный характер, несмотря на наличие большого количества онлайн ресурсов, баз данных и библиотек [5]. Изучение структурно-функциональных особенностей малых молекул перспективно как с точки зрения фундаментальной науки, так и с позиции новейших подходов современной медицины: постижение молекулярной основы здоровья, а также патологических состояний. Использование в качестве биомаркеров для оценки метаболической пластичности и индивидуального ответа в результате динамических изменений при нейродегенерации и нейровоспалении, что открывает перспективы для разработки и применения их в качестве терапевтических средств. В регенеративной медицине малые молекулы все больше применяются для создания биодеградируемых материалов [6], что играет существенную роль

для развития персонализированной превентивной медицины.

Важным инструментом для изучения молекулярных основ и механизмов развития (пато)физиологии центральной нервной системы (ЦНС) являются клеточные модели заболеваний [7, 8]. Для поиска, разработки и скрининга новых лекарственных препаратов, способных проникать через гематоэнцефалический барьер для адресной доставки лекарств, биоактивных соединений широко применяются клеточные технологии [9]. Сложностью в создании моделей ЦНС является трудоемкость протоколов, высокие требования к подготовке и обучению специалистов, стоимость расходных материалов, реактивов, содержания вивария с экспериментальными животными, а также этические вопросы, продолжительность культивирования клеток мозга, что несомненно ограничивает широкое клиническое применение клеточных технологий в практическом здравоохранении и задерживает общий прогресс нейронаук [10].

Для решения этих вопросов большую роль сыграла эволюция в области компьютерных технологий, современных алгоритмов машинного обучения, увеличение интереса к использованию искусственного интеллекта в медицине, что способствует повышению объективности и эффективности в обработке полученных результатов, интерпретации больших массивов данных, особенно в решении биомедицинских задач. Многообещающим подходом для развития медицинских открытий является разработка технологии цифровых двойников [11, 12]. Концептуально цифровой двойник — это цифровая копия, виртуальная модель, которая на основе анализа и оцифровки экспериментальных данных воспроизводит основные параметры жизнедеятельности живой системы на молекулярном, клеточном, организменном уровнях. Основной задачей цифрового двойника является способность прогнозировать и симулировать события при динамически изменяющихся условиях в норме и при заболеваниях, что, вероятно, частично сможет заменить дорогостоящие и ресурсоемкие лабораторные эксперименты моделированием in silico [13].

Таким образом, серия работ по изучению структурно-функциональных особенностей малых молекул включала ряд этапов: определение прогнозируемого спектра биологической активности естественных интермедиатов с применением компьютерного моделирования; опрделение потенциальных белковых партнеров для подтверждения научной гипотезы; постановка модельных экспериментов in vitro. Следующим шагом было создание моделей изолированных клеток головного мозга в стандартных условиях и при изменении микроокружения с добавлением метаболитов, модуляторов НАД+, индуктора окислительного стресса. Далее была создана виртуальная модель клеточной системы с протекающими процессами во времени - цифровой двойник - с применением алгоритмов машинного нейросетевого обучения.

Материалы и методы

Прогнозирование спектра биологической активности метаболитов лактата, пирувата, оксалоацетата и малата проводили с применением программы PASS версии 1.917 (Prediction of Activity Spectra for Substances). Потенциальные партнеры по взаимодействию с белками для малых молекул были определены с помощью Search Tool for Interactions Chemicals 5.0. (STITCH). Эксперименты по изучению факта взаимодействия лиганда с белком с помощью микрокапиллярного термофореза были проведены в лаборатории молекулярной и радиационной биофизики Курчатовского института (Россия) на оборудовании Monolith NT.115 (NanoTemper Technologies GmbH). Определение изменений конформационной структуры лактатдегидрогеназы под влиянием малых молекул выполняли с помощью дифференциальной сканирующей флуориметрии на приборе Prometheus NT.48 (NanoTemper Technologies, Германия). Определение жизнеспособности дермальных фибробластов человека под влиянием лактата, пирувата, малата и оксалоацетата в конечной концентрации 1,5 мМ проводили в Самарском государственном медицинском университете Минздрава России на мультиридере Tecan Infinite M200 PRO (Tecan Austria GmbH, Австрия) при 570 нм. Статистическая обработка данных была выполнена в пакете прикладных программ SPSS 12.0 (IBM SPSS Statistics, США). Серию экспериментов по культивированию изолированных астроцитов проводили в лаборатории нейробиологии и тканевой инженерии Института мозга ФГБНУ НЦН (Москва). Первичную культуру астроцитов получали из новорожденных крыс линии Wistar, методом ферментно-механической диссоциации по методике Стельмашук Е.В. [14]. Все экспериментальные протоколы были одобрены Этическим комитетом ФГБНУ НЦН. Фазово-контрастную микроскопию культуры астроцитов с изменением микроокружения – добавление лактата (1 мМ), малата (0,5 мМ), никотинамида (0,1 мМ), перекиси водорода (0,1 мМ), и без на разных этапах роста проводили с использованием системы визуализации "EVOS M7000" (Thermo Fisher Scientific, США), с инкубатором AMC1000 ежедневно в течение 10 дней. Анализ и пост-обработку полученных снимков фазово-контрастной микроскопии, создание цифровых двойников клеток выполняли в Научно-образовательном центре «Мягкая материя и физика флюидов» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Москва). Для пост-обработки полученных изображений был разработан программный-пакет на основе методик машинного обучения (нейросетевая модель Mask Regions With Convolution Neural Networks), который позволил распознать астроциты на полученных снимках, а также оценить их морфологические параметры.

Результаты и обсуждение

Изучение спектра биологической активности малых молекул с применением системы PASS выявило наличие способности у лактата и пирувата влиять на клеточные процессы, выступать в качестве цитопротекторов, стимуляторов лейко- и эритропоэза, ингибиторов

тромбопоэза. Показано, что изучаемые естественные интермедиаты оказывают противовоспалительное, антиишемическое действия, повышают сократительную способность сердца, защищают ткани от окислительного стресса. Получены сведения в отношении ингибиторных свойств изучаемых соединений для ряда ферментов. С помощью программы STITCH отмечаются взаимодействия исследуемых малых молекул с белками, в том числе альбумин, альфа-фетопротеин, цитохром b5, дофаминовыми, серотониновыми, глутаматными рецепторами, белками-переносчиками, в частности, белки семейства транспортёров растворённых веществ; митохондриальным переносчиком пирувата 1 и 2 типов, гормонами (адреналин, соматостатин, мелатонин), ферментами. Полученные в программе STITCH данные согласуются с предсказанными системой PASS различными молекулярными механизмами действия и фармакологическими эффектами интермедиатов [15].

Для дальнейшего изучения влияния малых молекул нами были выбраны изолированные системы, монокаталитические белки – глицерофосфатдегидрогеназа (ГФД) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Благодаря технологии приборов и микрообъему использованных проб модельные условия в последующих экспериментах были приближены к условиям in vivo. С использованием метода капиллярного термофореза мы подтвердили факт взаимодействия изучаемых малых молекул и каталитических белков. Нами были вычислены константы диссоциации, которые характеризуют степень сродства белка и его лиганда (таблица 1).

Таблица 1.

Константы диссоциации малых молекул и каталитических белков

	ГФД	ЛДГ
Лактат	1,0 мкМ	0,22 мкМ
Пируват	6,59 мкМ	0,03 мкМ
Оксалоацетат	3,17 мкМ	0,46 мкМ
Малат	3,89 мкМ	1,81 мкМ

Нами был проведен эксперимент по оценке процесса формирования пространственной структуры каталитических белков ГФД и ЛДГ под влиянием различных концентраций растворов лигандов (0,5-16 мкМ) с использованием метода дифференциальной сканирующей флуориметрии. Обращает на себя внимание изменение глубины и формы образованных пиков на кривой первой производной, что отражает разное конформационное состояние молекулы белка. Данная тенденция сохраняется со всеми концентрациями лигандов для ГФД (рис. 1а) и ЛДГ (рис. 1б), имея дозозависимый характер [2].

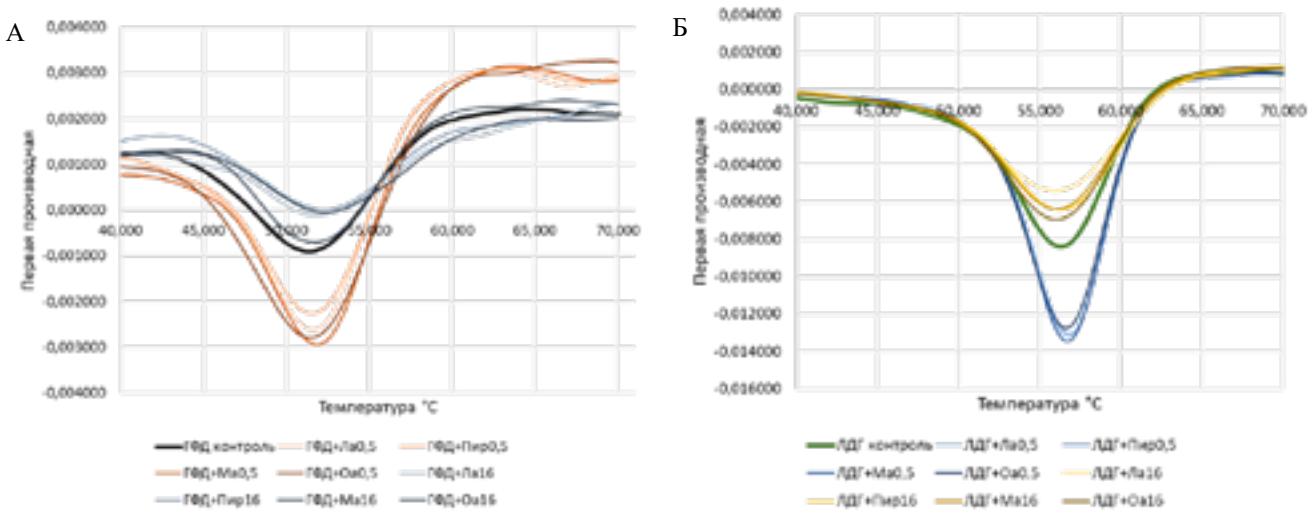


Рис.1. Изучение влияния оксалоацетата, пирувата, малата и лактата на глицерофосфатдегидрогеназу (А) и лактатдегидрогеназу (Б) методом дифференциальной сканирующей флуориметрии

Для ответа на вопрос как связано изменение конформации каталитических белков с изменением функциональных характеристик была проведена серия экспериментов по изучению влияния изучаемых соединений на фермент-субстратное взаимодействие. Было показано, что оксалоацетат и малат в концентраци 1 мкМ и 10 мкМ увеличивают активность ЛДГ, в миллимолярной концентрации эффекты метаболитов сонаправлены, обладают дозозависимым и ингибирующим действием при 5 мМ, причем действие малата выражено сильнее. Таким образом, изучаемые лиганды в физиологической концентрации проявляют себя как активаторы каталитических белков и стабилизаторы при действии температурного фактора. Напротив, оказывают выраженное дестабилизирующее воздействие на конформацию молекул и ингибирующее на функцию белка при добавлении метаболитов в несколько раз выше физиологической величины. Следующим этапом исследования было выяснение роли малых молекул в определении жизнеспособности клеточной культуры дермальных фибробластов человека. Было показано, что лактат снижает жизнеспособность клеток на 67,6% ($p=0,005$), малат и оксалоацетат увеличивают жизнеспособность фибробластов на 27,3% ($p=0,019$) и 33,8% ($p=0,028$) соответственно.

Следующим этапом проводилась визуализация и сравнение структурно-морфологических особенностей и жизнеспособности клеточной культуры астроцитов с изменением микроокружения и без на разных этапах роста с последующей пост-обработкой. В результате были получены временные зависимости таких параметров как площадь клетки, длина его отростков, количество ветвей в отростках и значения соответствующих дисперсий для разных

дней культивирования. На рисунке 2 представлен пример полученной гистограммы площадей астроцитов на 7 день роста клеток, зависимость среднего числа узлов отростков астроцитов в зависимости от дня роста, а также полученные аппроксимации. Кроме того, в рамках модели Поттса, были проведены пилотные моделирования условий жизнеспособности культуры клеток в условиях гипоксии, нормоксии и оксигенации культуры, что отображало их выживаемость.

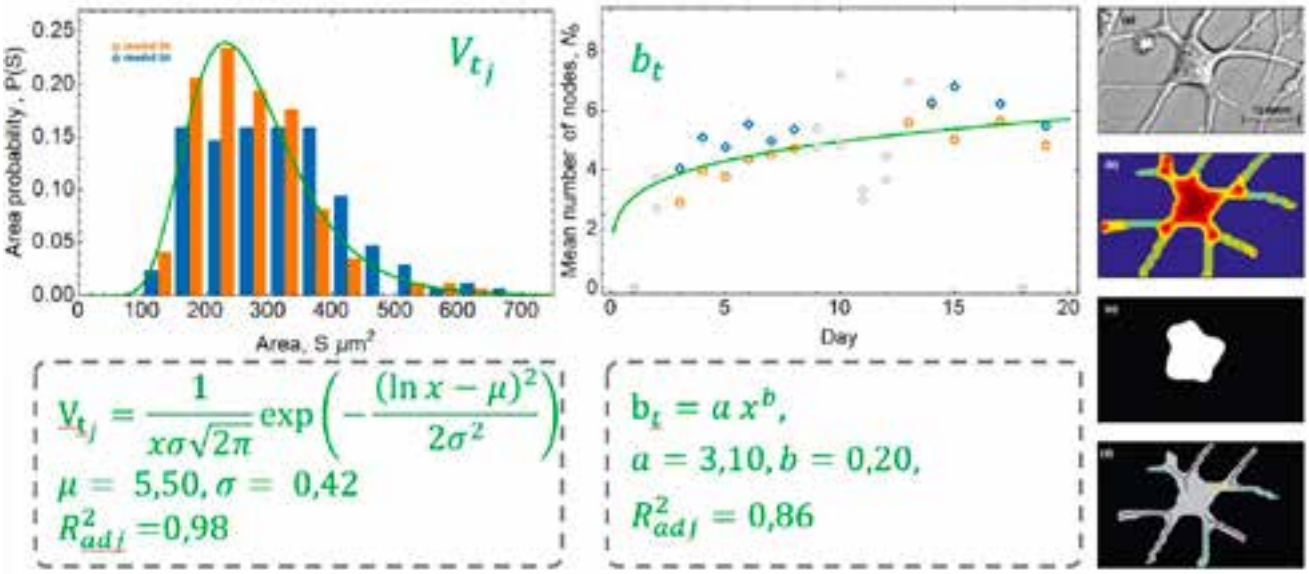


Рис.2. Гистограмма площади астроцитов на 7 день культивирования, зависимость среднего числа узлов отростков астроцитов от дня роста клеток, полученные аппроксимации, снимки астроцитов, примеры результатов пост-обработки

Заключение

Компьютерное моделирование биологического спектра и белков-партнеров для малых молекул позволило проанализировать широкий круг процессов и межмолекулярных явлений, выявить структурно-функциональный потенциал изучаемых переключателей обмена веществ. В ходе проведенных фундаментальных исследований показано влияние метаболитов на конформационную структуру каталитических белков, и как следствие на их функциональную активность. Изменение жизнеспособности клеток под влиянием малых молекул свидетельствует о возможности переключать их энергетические потоки, регулируя и оптимизируя метаболизм под влиянием внешних факторов, что открывает перспективы для дальнейшего изучения в качестве биоразлагаемых, биосовместимых, нетоксичных материалов, например, на основе поли-L-молочной, поли-L-яблочной кислот, сополимеров молочной и гликолевой кислот. Кроме того, модулирующее действие метаболитов на процессы метаболической пластичности мозга открывает перспективы их применения для диагностики, лечения острых и хронических заболеваний ЦНС, в том числе вследствие нейродегенерации, нейровоспаления, старения.

Применение технологии машинного обучения позволяет значительно ускорить обработку фотографий, полученных с помощью фазово-контрастной микроскопии. Кроме того, имея универсальный характер, в перспективе данный подход может быть использован для разных культур клеток и клеточных линий, что позволит эффективно автоматизировать процесс анализа полученных данных. Это несомненно вносит вклад в развитие методов обработки изображений, расширяет возможности применения технологии машинного обучения нейросети для решения задач нейронаук, нейробиоинженерии и медицины в целом. Компьютерное моделирование, создание динамических моделей, симуляция жизнедеятельности клеток в заданных условиях при стандартных условиях и изменении микроокружения с добавлением биологически активных соединений, модуляторов, лекарственных препаратов позволит в ближайшем будущем частично отказаться от дорогостоящих, ресурсоемких, рутинных работ, ускорить время получения результатов, что однозначно скажется на разработке новых терапевтических подходов персонализированной медицины с целью улучшения диагностики, прогнозирования, лечения. Междисциплинарный подход на стыке медицинских, биологических, технических наук позволит создать пласт исследований в данной области, будет способствовать подготовке новых высококвалифицированных кадров, которые смогут найти применение фундаментальных исследований в практическом здравоохранении, что поможет вывести современную медицину на новый уровень.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li F., Xu W., Zhao S. Regulatory roles of metabolites in cell signaling networks // J Genet Genomics. – 2013. - 40(7). 367-374.
2. Гильмиярова Ф.Н., Кузьмичева В.И., Колотьева Н.А. и др. Конформационные особенности лактатдегидрогеназы: влияние температурного фактора в присутствии малых молекул, математическая модель // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. - 19(3). - 6-14.
3. Lopez Krol A., Nehring H.P., Krause F.F., et al. Lactate induces metabolic and epigenetic reprogramming of pro-inflammatory Th17 cells // EMBO/ - 2022/ - 23(12)/ - e54685
4. Li X., Wang X., Snyder M. Systematic investigation of protein-small molecule interactions // IUBMB Life. – 2013. - 65(1). - 2-8.
5. Kurbatov I., Dolgalev G., Arzumanian V., et al. The Knowns and Unknowns in Protein-Metabolite Interactions // Int J Mol Sci. – 2023/ - 24(4)/ 4155.
6. Kolotyeva N.A., Gilmiyarova F.N., Averchuk A.S., et al. Novel Approaches to the Establishment of Local Microenvironment from Resorbable Biomaterials in the Brain In Vitro Models // Int J Mol Sci. – 2023/ - 24(19). - 14709.
7. Salmina A.B., Malinovskaya N.A., Morgun A.V., et al. Reproducibility of developmental neuroplasticity in *in vitro* brain tissue models // Rev Neurosci. – 2022. - 33(5). - 531-554.

8. Osipova E.D., Komleva Y.K., Morgun A.V., et al. Designing *in vitro* Blood-Brain Barrier Models Reproducing Alterations in Brain Aging // Front Aging Neurosci. – 2018. – 10. - 234.
9. Salmina A.B., Komleva Y.K., Malinovskaya N.A., et al. Blood-Brain Barrier Breakdown in Stress and Neurodegeneration: Biochemical Mechanisms and New Models for Translational Research // Biochemistry (Mosc)/ - 2021. - 86(6) . - 746-760.
10. Хаспеков Л.Г. Клеточные модели заболеваний нервной системы // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2018. - Т. 12. - №5S. - С. 70-78.
11. Savtchenko L.P., Bard L., Jensen T.P., et al. Disentangling astroglial physiology with a realistic cell model in silico // Nat Commun. – 2019. - 10(1). - 5062.
12. Kamel Boulos M.N., Zhang P. Digital Twins: From Personalised Medicine to Precision Public Health // J Pers Med. – 2021. - 11(8). - 745.
13. Iqbal J.D., Krauthammer M., Biller-Andorno N. The Use and Ethics of Digital Twins in Medicine // J Law Med Ethics. – 2022. - 50(3). 583-596.
14. Стельмашук Е.В., Капкаева М.Р., Розанова Н.А. и др. Влияние индуктора нейровоспаления на компоненты нейроваскулярной единицы головного мозга in vitro // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2022/ - 108(5)/ - 686-696.
15. Колотьева Н.А., Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., и др. PASS и STITCH в верификации неизвестных свойств пирувата и лактата. Обзор литературы и фрагменты собственных исследований // Бюллетень сибирской медицины. – 2023. - 22(3). - 110-119.

КЛИНИЧЕСКИЕ, ЛАБОРАТОРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У ЖЕНЩИН В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН

К.Б. Манышева

Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

Аннотация

Обоснование: Инсульт на протяжении десятилетий сохраняет лидирующие позиции среди причин смертности населения во всем мире. Несмотря на совершенствование методов диагностики, для 40% пациентов, перенесших ишемический инсульт, не удается установить его причины. Высокая частота случаев инсульта остается серьезной проблемой системы здравоохранения, требуя к себе повышенного внимания и разработки новых профилактических стратегий.

Цель исследования: установить вклад некоторых модифицируемых (гипергомоцистеинемия, гиперкоагуляция, дислипидемия) и немодифицируемых (полиморфизм генов, кодирующих белки системы свертывания крови и обмена фолатов) факторов в возникновение острой ишемии головного мозга у женщин в Республике Дагестан.

Методы: В работе использован дизайн одномоментного сплошного исследования. В исследование были включены 75 женщин в острейшем периоде ишемического инсульта и 35 женщин, проживающих в Дагестане, без ОНМК в анамнезе. Исследование включало клинический осмотр и использование дополнительных инструментальных, лабораторных и молекулярно-генетических методов исследования.

Результаты: Два гена вносят значимый вклад в риск возникновения ишемического инсульта в Дагестане. Гипергомоцистеинемию можно расценивать в качестве маркера острой церебральной ишемии у женщин в Дагестане. Выявлен статистически значимый более высокий уровень гомоцистеина у пациенток с варианом ТТ гена MTHFR ($p<0,05$). Пациентки с инсультом в анамнезе с полиформизом 4G/4G гена PAI-1 имеют статистически значимо более высокое значение коэффициента атерогенности по сравнению с пациентками с полиморфизмом 5G/5G, а более высокий коэффициент атерогенности является маркером более тяжелого неврологического дефицита при развитии ишемического инсульта.

Заключение: Не все изученные модифицируемые и немодифицируемые факторы способствуют развитию инсульта у женщин Дагестана. Молекулярно-генетические методы в современной медицине становятся рутинными, и их использование для выявления немодифицируемых факторов риска может стать важным компонентом персонализированной диагностики.

Ключевые слова: ишемический инсульт, женщины, Республика Дагестан.

CLINICAL, LABORATORY AND GENETIC ASPECTS OF ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA IN WOMEN IN THE REPUBLIC OF DAGESTAN

K.B. Manysheva

Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

Abstract

Background: For decades, stroke has maintained a leading position among the causes of death worldwide. Despite the improvement of diagnostic methods, for 40% of patients who have suffered an ischemic stroke, its cause cannot be established. The high incidence of stroke remains a serious problem in the healthcare system, requiring increased attention and the development of new preventive strategies.

Aims: to establish the contribution of some modifiable (hyperhomocysteinemia, hypercoagulation, dyslipidemia) and non-modifiable (polymorphism of genes encoding proteins of the blood coagulation system and folate metabolism) factors in the occurrence of acute cerebral ischemia in women in the Republic of Dagestan.

Materials and methods: The study used a single-stage continuous study design. The study included 75 women in the acute period of ischemic stroke and 35 women living in Dagestan without a history of stroke. The study included a clinical examination and the use of additional instrumental, laboratory and molecular genetic research methods.

Results: Two genes make a significant contribution to the risk of ischemic stroke in Dagestan. Hyperhomocysteinemia can be regarded as a marker of acute cerebral ischemia in women in Dagestan. A statistically significant higher level of homocysteine was revealed in patients with the TT variant of the MTHFR gene ($p<0,05$). Patients with a history of stroke with the 4G/4G polyformism of the PAI-1 gene have a statistically significantly higher atherogenic index value compared to patients with the 5G/5G polymorphism, and a higher atherogenic index is a marker of more severe neurological deficit in the development of ischemic stroke.

Conclusions: Not all studied modifiable and non-modifiable factors contribute to the development of stroke in women in Dagestan. Molecular genetic methods in modern medicine are becoming routine, and their use to identify non-modifiable risk factors can be an important component of personalized diagnostics.

Keywords: ischemic stroke, women, Republic of Dagestan.

Обоснование

По данным Всемирной Организации Здравоохранения острые нарушения мозгового кровообращения занимают второе место в общей структуре причин смертности населения, уступая лишь ишемической болезни сердца. Показатели ежегодной заболеваемости и смертности

от инсульта в Российской Федерации одни из наиболее высоких в мире. В РФ почти 500 тысяч человек ежегодно переносят инсульт. Около 200 тысяч россиян погибают ежегодно вследствие перенесенного инсульта. В РФ проживает более 1 миллиона человек с последствиями данного заболевания, из них 80% являются инвалидами. У женщин в России инсульт занимает 3 место среди причин смертности. Точное установление причины первого ишемического инсульта в значительной степени определяет эффективность мероприятий для профилактики повторного инсульта [1]. При этом частота инсульта с неустановленной причиной составляет до 40% [2].

Между многими модифицируемыми и немодифицируемыми факторами риска церебральных инсультов имеется взаимодополняющее влияние, вследствие чего их сочетание приводит к более значительному увеличению вероятности заболевания, чем простое арифметическое сложение их отдельных вероятностей. Возрастающее внимание уделяется изучению генетических факторов в развитии инсультов. В ряде случаев церебральный инсульт может быть клиническим синдромом определенных моногенных наследственных заболеваний, однако в большинстве случаев сосудистое поражение головного мозга является мульфакториальным, обусловленным сочетанием наследственной предрасположенности и внешних факторов риска. Наибольшее значение в формировании предрасположенности к развитию цереброваскулярной патологии имеют гены ренин-ангиотензинной системы, системы гемостаза, гены, регулирующие функцию эндотелия и метаболизм липидов, гены воспалительного ответа, программированной клеточной смерти [3].

В большинстве субъектов России общая заболеваемость инсультом у мужчин несколько выше, чем у женщин, однако данные анализа регистра инсультов свидетельствуют, что в ряде регионов у женщин инсультов происходит не меньше, а больше, чем у мужчин [4].

В Дагестане отмечается постепенное увеличение числа инсультов с возрастом, как для мужчин, так и для женщин. Заболеваемость инсультом составляет в среднем 245 случаев на 100 тыс. человек ежегодно, что сопоставимо с показателями других регионов, т.е. при пересчете на численность населения ежегодно происходит до 3000 инсультов. С возрастом риск заболевания ишемическим инсультом увеличивается экспоненциально, и максимальное количество острых нарушений мозгового кровообращения происходит в возрасте старше 70 лет. При этом количество инсультов среди мужчин больше во всех возрастных группах до 70 лет [5]. К сожалению, уже более 10 лет в Дагестане Регистр инсульта не ведется, а в статистических сборниках Министерства здравоохранения информация об ОНМК и вовсе отсутствует. Поэтому нам пришлось прибегнуть к анализу случаев инсульта на базе Республиканской клинической больницы им. А.В. Вишневского, создав госпитальный регистр. По нашим данным число инсультов у женщин составляет 33,8 %. Средний возраст дебюта ишемического инсульта у женщин в Дагестане в среднем на 2 года выше, чем у мужчин.

Существуют доказательства наличия половых различий в клинической картине, тактике лечения инсульта и его результатах, обусловленных разницей в течении и клинических проявлениях. В связи с этим целесообразно выявление закономерностей влияния биологических факторов, определяемых полом, на ишемический инсульт у женщин. А высокая частота случаев инсульта остается серьезной проблемой системы здравоохранения, требуя к себе повышенного внимания и разработки новых профилактических стратегий [6].

Цель исследования: установить вклад некоторых модифицируемых (гипергомоцистеинемия, гиперкоагуляция, дислипидемия) и немодифицируемых (полиморфизм генов, кодирующих белки системы свертывания крови и обмена фолатов) факторов в возникновение острой ишемии головного мозга у женщин в Республике Дагестан.

Методы

Дизайн исследования

В работе использован дизайн одномоментного сплошного исследования.

Критерии соответствия

Критерии включения в исследование: женский пол, первичный ишемический инсульт в каротидном или вертебрально-базилярном бассейне васкуляризации, верификация диагноза данными нейровизуализационных методов исследования (МРТ или КТ головного мозга), острейший период заболевания (госпитализация в стационар в течение 72 часов от появления первых симптомов), наличие подписанного пациентом или его законным представителем добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование: мужской пол, геморрагический инсульт или нетравматическое субарахноидальное кровоизлияние, ишемический инсульт с геморрагическим пропитыванием по данным нейровизуализационных методов исследования (МРТ или КТ головного мозга), госпитализация пациента в стационар вне острейшего периода заболевания (по истечении 72 часов от появления первых симптомов), отказ пациента или его законного представителя от подписания добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе Республиканской клинической больницы им. А.В. Вишневского, г. Махачкала.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось на протяжении двух лет, ввиду своего дизайна оно имело одну конечную контрольную точку.

Описание медицинского вмешательства

Каждый участник исследования был индивидуально опрошен и осмотрен исследователем с заполнением индивидуальной карты. В нее входили сбор жалоб и анамнеза, общеклиническое и неврологическое обследование с определением патогенетического подтипа ишемического инсульта согласно критериям TOAST. Неврологический осмотр проводился по общепринятой методике. Уровень сознания оценивали по шкале комы Глазго. С целью стандартизации результатов оценки степени тяжести неврологического дефицита в основной группе использовали шкалу инсульта NIH. Дополнительные исследования включали нейровизуализацию, электрокардиографию, дуплексное сканирование экстра- и интракраниальных сосудов, общий анализ крови, биохимический анализ крови с определением уровня гомоцистеина и липидным спектром, коагулограмму, а также молекулярно-генетическое исследование по 11 полиморфизмам в генах-кандидатах, потенциально значимых для развития ишемического инсульта: 20210 G>A в гене FII, 1691 G>A в гене FV, 10976 G>A в гене FVII, -455 G>A в гене FGB, 428C>T в гене GP1BA, 807C>T в гене ITGA2, Leu33Pro 1565 T>C в гене ITGB3, 677C>T в гене MTHFR, 66A>G в гене MTRR, 2756A>G в гене MTR, 5G/4G в гене PAI-1.

Анализ в подгруппах

В основную группу были включены 75 женщин в острейшем периоде ишемического инсульта. Группу контроля составили 35 женщин без ОНМК в анамнезе. Основная группа была разделена на две подгруппы в зависимости от уровня ЛПВП – больше или меньше 1,25 ммоль/л.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ДГМУ.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 23.0 (IBM). Основной описательной статистикой для категориальных и порядковых переменных были частота и процентная доля, для количественных переменных – среднее и стандартное отклонение или медиана и квартили. Во всех случаях использовали двусторонние варианты статистических критериев. Нулевую гипотезу отвергали при $p<0,05$. Учитывая объем выборки близкий к 100, предпочтение отдавалось анализу параметрическими методами.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование были включены 75 женщин в острейшем периоде ишемического инсульта, постоянно проживающих на территории Дагестана, средний возраст которых составил 68,95±10,65 лет. Группу контроля составили 35 женщин, проживающих в Дагестане, без ОНМК в анамнезе, средний возраст 66,46 ±10,9 лет. Пациентки обеих групп относились к пожилому возрасту согласно классификации всемирной организации здравоохранения. Основные

демографические показатели и сосудистые факторы риска основной и контрольной групп в целом были сопоставимы у представительниц обеих групп.

Основные результаты исследования

При оценке отношения шансов развития ишемического инсульта в зависимости от наличия патологического аллеля изучаемых генетических полиморфизмов предрасположенности к тромбофилии установлено, что наличие аллеля G гена MTRR повышает риск развития ишемического инсульта в 1,4 раза, а аллеля C гена ITGB3 в 1,6 раза.

Пациентки с нарушением мозгового кровообращения имеют статистически значимо более высокий уровень гомоцистеина – в среднем 17,2 мкмоль/л по сравнению с контрольной группой, в которой уровень гомоцистеина составил всего 13,6 мкмоль/л ($p<0,05$). Таким образом, гипергомоцистеинемию можно расценивать в качестве маркера ишемического инсульта у женщин в Дагестане.

При сопоставлении пациенток из основной группы с различными вариантами гена MTHFR обнаружено, что распределение уровня гомоцистеина имело статистически значимые различия в зависимости от вида полиморфизма гена. Среднее значение концентрации гомоцистеина при наличии генотипа CC гомозиготного по цитозину составило 15,3 мкмоль/л, при гетерозиготном носительстве CT – 15,9 мкмоль/л, при гомозиготном генотипе по тимину TT – 20,7 мкмоль/л ($p<0,05$). Таким образом, выявлен статистически значимый более высокий уровень гомоцистеина у пациенток с вариантом гомозиготным по тимину TT гена MTHFR по сравнению с пациентками с другими аллельными вариантами данного гена.

Несмотря на очевидную взаимосвязь ишемии и гиперкоагуляции, ее роль в развитии ишемического инсульта неоднозначна. С целью оценки особенностей параметров гемокоагуляции у пациенток с инфарктом мозга в острейшем периоде нами был выполнен анализ результатов коагулологического исследования крови. При анализе параметров системы гемокоагуляции обнаружено, что у пациенток с нарушением мозгового кровообращения в анамнезе в острейшем периоде по сравнению с группой контроля статистически значимо более высокие уровни фибриногена и МНО и более низкие значения протромбина по Квику, антитромбина III и тромбинового времени ($p<0,05$).

Выявлено, что изучаемые группы статистически значимо различались по всем показателям липидного профиля. У пациенток с нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу в анамнезе выявлены более высокие значения общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой плотности и коэффициента атерогенности, и более низкие значения липопротеидов высокой плотности по сравнению с лицами из контрольной группы ($p<0,05$).

При оценке показателей липидного профиля в зависимости от варианта полиморфизма гена PAI-1 у пациенток с ОНМК выявлены статистически значимые различия по коэффициенту атерогенности. Для лиц с генотипом 5G/5G среднее значение коэффициента атерогенности составило 3,7, при гетерозиготном генотипе 5G/4G 4,3, в случае гомозиготы 4G/4G – 5,1 ($p<0,05$).

С повышением возраста связан более выраженный неврологический дефицит согласно оценке по шкале NIHSS в основной группе пациенток ($p<0,05$).

Дополнительные результаты исследования

Ассоциация гипергомоцистеинемии со снижением липопротеидов высокой плотности играет важную роль в возникновении ишемического инсульта у женщин в Дагестане, что подтверждается результатами проведенного нами ROC-анализа, в соответствии с которыми гомоцистеин и липопротеиды высокой плотности по отдельности вносят свой вклад в развитие нарушение мозгового кровообращения у изучаемой группы, и их роль значительно возрастает при учете взаимодействия снижения уровня липопротеидов высокой плотности и гипергомоцистеинемии в построенной модели бинарной логистической регрессии.

На основании проведенного ROC-анализа группа пациенток с острой церебральной ишемией в анамнезе была разделена на две подгруппы в зависимости от уровня липопротеидов высокой плотности. В соответствии с проведенным ROC-анализом пороговое значение для липопротеидов высокой плотности у изучаемой группы женщин составило 1,25 ммоль/л, снижение которого с чувствительностью 77% и специфичностью 87% свидетельствует в пользу развития ишемического инсульта. По данному уровню липопротеидов высокой плотности и была разделена основная группа, что выявить факторы, которые присутствовали у женщин с ОНМК в анамнезе при уровне липопротеидов высокой плотности выше 1,25 ммоль/л. Обнаружены статистически достоверные различия по коэффициенту атерогенности, которые являются следствием различий в значениях липопротеидов высокой плотности ($p<0,05$).

Между группами пациенток с острой церебральной ишемией со значениями липопротеидов высокой плотности более и менее 1,25 ммоль/л не было выявлено статистически значимых различий по уровню гомоцистеина и по возрасту. Данные группы различались по степени неврологического дефицита по шкале Национального института здоровья, как представлено на рисунке. В группе пациенток с ОНМК в анамнезе и липопротеидами высокой плотности <1,25 ммоль/л ($n=65$) медиана баллов неврологического дефицита по шкале NIHSS составила 7,0, в том время как при уровне липопротеидов высокой плотности >1,25 ммоль/л ($n=10$) – 3,5.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений при проведении исследования не отмечалось.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Два гена вносят значимый вклад в риск возникновения ишемического инсульта в Дагестане. Гипергомоцистеинемию можно расценивать в качестве маркера острой церебральной ишемии у женщин в Дагестане. Выявлен статистически значимый более высокий уровень гомоцистеина у пациенток с вариантом ТТ гена MTHFR ($p<0,05$). Пациентки с инсультом в анамнезе с полиформизом 4G/4G гена PAI-1 имеют статистически значимо более высокое значение коэффициента атерогенности по сравнению с пациентками с полиморфизмом 5G/5G, а более высокий коэффициент атерогенности является маркером более тяжелого неврологического дефицита при развитии ишемического инсульта.

Обсуждение основного результата исследования

В настоящем исследовании были изучены 11 полиморфных вариантов генов, ответственных за процессы гемокоагуляции и обмен фолатов в организме, потенциально выступающих в качестве предикторов возникновения ишемического инсульта. Несмотря на имеющееся в литературе подтверждение статистической значимости данных однонуклеотидных полиморфизмов в качестве факторов риска развития инсульта, нами было обнаружено, что лишь два из них вносят значимый вклад в риск возникновения ишемического инсульта у женщин в Республике Дагестан. Поскольку определить ведущее звено в патогенезе ишемического инсульта, а также установить его патогенетический подтип не всегда возможно, предложенные в качестве инструментов скрининга полиморфизмы генов F VII и ITGB3 рекомендовано применять для диагностики в случае патогенетического подтипа ишемического инсульта неустановленной этиологии. Несмотря на то, что связь риска инсульта и изменений липидного спектра неоднозначна, наши результаты демонстрируют наличие дислипидемии у пациентов женского пола с ишемическим инсультом. Наиболее статистически значимые различия в нашем исследовании были выявлены по ЛПВП и коэффициенту атерогенности ($p<0,001$). пациентки с ОНМК с полиформизом 4G/4G гена PAI-1 имеют статистически значимо более высокое значение коэффициента атерогенности по сравнению с пациентками с полиморфизмом 5G/5G ($p<0,05$). При проведении внутригруппового анализа в виде сопоставления подгрупп пациенток в зависимости от уровня ЛПВП установлено, что при уровне ЛПВП <1,25 ммоль/л (n=65) медиана баллов неврологического дефицита по шкале NIHSS составила 7,0 [4,0; 11,0], в том время как при уровне ЛПВП >1,25 ммоль/л (n=10) 3,5 [2,0; 5,0] ($p<0,05$). Эти лабораторные данные позволяют заранее прогнозировать глубину неврологического дефицита при возникновении острой церебральной ишемии и могут быть эффективными при выборе алгоритма реабилитационных мероприятий и постановке целей реабилитации.

Ограничения исследования

Единственным ограничением исследования является относительно малый объем выборки – при его увеличении возможно формирование иных результатов при отсутствии внесения изменений в дизайн исследования.

Заключение

Острая церебральная ишемия представляет собой клинический синдром, обусловленный сочетанием немодифицируемых и модифицируемых факторов риска. При этом факторы риска влияют как на сам факт возникновения ишемического инсульта, так и позволяют с высокой долей вероятности судить о тяжести возникающего неврологического дефицита. Новые данные, полученные в результате исследования, способствуют разработке персонализированных подходов к диагностике и профилактике ишемического инсульта, которые уже внедрены в работу лечебных учреждений в Дагестане. Широкое применение принципов персонифицированной предиктивной медицины может являться предвестником сдвига существующей ситуации в эпидемиологии и терапии ишемических инсультов. Использование в клинической практике рутинных молекулярно-генетических методов с целью установления немодифицируемых факторов риска может явиться важным компонентом персонализированной диагностики, что позволит значительно повысить диагностическую ценность скрининговых исследований в группе риска по ишемическому инсульту.

Источник финансирования

Исследование и публикации статьи осуществлены на личные средства автора.

Участие авторов

Весь объем исследования, описанного в данной публикации, выполнен персонально автором.

Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердил отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Камчатнов П.Р. Ишемический инсульт. Современное состояние проблемы // Доктор.ру. – 2013. № 5 (83). – С. 2–7.
2. Ануфриев П.Л., Танашян М. М., Гулевская, Т. С. Современный подход к диагностике патогенетических вариантов ишемического инсульта при атеросклерозе и артериальной гипертонии // Вестник РГМУ. – 2020. № 6. – С. 80–86.
3. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Камчатнов П.Р. и др. Церебральный инсульт // Consilium Medicum. – 2014. Т. 16. № 12. С. 13–17.
4. Стаховская Л.В., Клочихина О.А., Богатырева М.Д. и др. Сравнение заболеваемости инсультом в отдельных регионах Российской Федерации (по данным территориально-популяционного регистра инсульта, 2009–2014 гг.) // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019;14(1.1):64-68.
5. Магомаев М.Ф., Умаханова З.Р., Калияев И.Д. и др. Гендерные особенности церебрального инсульта в Дагестане // Уральский медицинский журнал. – 2012. № 8 (100). – С. 102–105.
6. Arnao V., Acciarresi M., Cittadini E., Caso V. Stroke incidence, prevalence and mortality in women worldwide // International journal of stroke. – 2016. Vol. 11 (3). – P. 287–301.

Контактная информация

Манышева Ксения Борисовна [**Kseniia B. Manysheva**]; адрес: Россия, 367000, Махачкала, пл. Ленина, д.1 [address: 1 Lenina sq., 367000 Makhachkala, Russia]; телефон: 8 (963) 413-68-69; **ORCID**: 0000-0002-1946-0424; **eLibrary SPIN**: 8638-5267; **e-mail**: manyshevakb@gmail.com

НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИОННЫЕ МАРКЕРЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

А.Н. Москаленко, С.Н. Иллариошкин

ФГБНУ «Научный центр неврологии», г. Москва

Введение. Болезнь Паркинсона (БП) и эссенциальный тремор (ЭТ) являются наиболее распространенными двигательными расстройствами, которые, несмотря на различный патогенез, могут иметь схожие моторные и немоторные проявления, что значительно затрудняет дифференциальную диагностику, особенно на ранних стадиях заболевания [1]. При БП в отличие от ЭТ кардинальными гистопатологическими признаками являются накопление железа и внутри/внеклеточного пигмента нейромеланина (НМ) в черной субстанции (ЧС) [2]. Показана информативность нейровизуализационных методик для косвенной оценки содержания данных элементов в составе ЧС. Одна из них основывается на режиме SWI (изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости), с помощью которого в ЧС были визуализированы области с высоким содержанием дофаминергических нейронов и низкой концентрацией железа – нигросомы. Другая методика, основанная на парамагнитных свойствах комплекса НМ-железо, позволяет косвенно оценить содержание НМ в дофаминергических нейронах ЧС. Данный метод получил название нейромеланин-чувствительной МРТ (НМ-МРТ) [3].

Цель исследования. Оценить структурные изменения ЧС при БП и ЭТ, определить дифференциально-диагностическую ценность МРТ-методик.

Материалы и методы. 90 пациентам с БП, 42 пациентам с ЭТ и 60 здоровым добровольцам проводилась МРТ головного мозга на высокопольных томографах Siemens Magnetom Verio и Siemens Magnetom Prisma (Siemens AG, Erlangen, Германия). Для качественного анализа нигросомы-1 использовалась импульсная последовательность SWI. Для оценки сигнальной гиперинтенсивности ЧС и расчета ее площади использовалась импульсная последовательность T1, чувствительная к нейромеланину, с последующей обработкой изображения в специальной программе ImageJ.

Результаты. Для пациентов с БП были определены два МРТ-паттерна изменения ЧС – отсутствие визуализации нигросомы-1 в режиме SWI и уменьшение площади нейромеланин-зависимого контраста в режиме T1. Продемонстрирована высокая диагностическая значимость данных методик в дифференцировании БП от ЭТ

(чувствительность и специфичность первого биомаркера составили 88,9% и 92,9%, второго – 88,1% и 80,0%, соответственно).

Заключение. В настоящей работе представлены два новых высокоинформативных МРТ-биомаркера БП, позволяющих с высокой точностью дифференцировать пациентов с данным нейродегенеративным заболеванием ЦНС от здоровых людей и пациентов с фенотипически схожим заболеванием – ЭТ, что в значительной степени облегчает постановку правильного диагноза для практикующих неврологов.

ЛИТЕРАТУРЫ

1 - Tarakad, Arjun, and Joseph Jankovic. “Essential Tremor and Parkinson's Disease: Exploring the Relationship.” Tremor and other hyperkinetic movements (New York, N.Y.) vol. 8 589. 9 Jan. 2019, doi:10.7916/D8MD0GVR

2 – Nagatsu, Toshiharu et al. “Neuromelanin in Parkinson's Disease: Tyrosine Hydroxylase and Tyrosinase.” International journal of molecular sciences vol. 23,8 4176. 10 Apr. 2022, doi:10.3390/ijms23084176

3 - Pavese, Nicola, and Yen F Tai. “Nigrosome Imaging and Neuromelanin Sensitive MRI in Diagnostic Evaluation of Parkinsonism.” Movement disorders clinical practice vol. 5,2 131-140. 22 Feb. 2018, doi:10.1002/mdc3.12590

РАЗРАБОТКА МИТОХОНДРИАЛЬНО-ОРИЕНТИРОВАННОГО ПОДХОДА К ТАРГЕТНОЙ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Д.И. Поздняков, А.А. Вихорь

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ

Актуальность исследования

Митохондрии известны, прежде всего, как внутриклеточные источники энергии, которые генерируют ее в виде АТФ в ходе реакций окислительного фосфорилирования. Однако, проведенные в последнее время исследования показали, что роль митохондрий в клетке шире, чем представлялось ранее [1]. На сегодняшний день установлено, что митохондрии принимают непосредственное участие в регуляции кальциевого гомеостаза, запрограммированной апоптотической гибели клеток, окислительно-восстановительных реакций. Также существенна роль митохондрий в поддержании процессов клеточного роста и пролиферации. Исходя из значимой роли митохондрий в физиологии клетки, можно предположить, что нарушение митохондриальной функции существенно сказывается на деятельности многих органов и систем, прежде всего с высокой метаболической активностью [2]. Установлено, что головной мозг, составляя не более 2% от массы тела, потребляет приблизительно 20% от общего уровня, синтезируемого в организме АТФ. В связи с чем развитие митохондриальной дисфункции будет чрезвычайно негативно отражаться на оптимальном функциональном состоянии головного мозга [3].

Установлено, что митохондриальная дисфункция является неотъемлемой составляющей патогенетического каскада церебрального повреждения при ишемии. Так, в очаге «ишемической полутени» наблюдается снижение метаболической активности клеток до минимально возможного физиологического уровня, повышение которого может стабилизировать состояние нейрональных клеток и уменьшить область церебрального инфаркта. Стоит отметить, что нейроны и, соответственно, митохондрии чувствительны к целенаправленному терапевтическому воздействию в течении нескольких дней, что значительно увеличивает шансы на более благоприятный прогноз заболевания [4]. Существенна роль нарушения структурно-функциональной активности митохондрий и в патогенезе нейроденегеративных заболеваний: болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. В условиях болезни Альцгеймера дисфункция митохондрий и

сопутствующий гипометаболизм способствуют накоплению аномальных форм амилоидных пептидов и тау-протеина - характерных патогенетических факторов, приводящих к атрофии головного мозга [5]. В тоже время одной из основ патогенеза болезни Паркинсона является нарушение функционирования митохондриального комплекса I (НАДН-дегидрогеназы), что вызывает накопление активных форм кислорода и гибель нейронов черной субстанции в результате липопероксидативных процессов [6]. Стоит отметить, что нарушение биоэнергетических процессов отмечается и при травмах головного мозга, как острых, так и периодических. При этом, митохондриальная дисфункция в большинстве случаев выступает в качестве триггера вторичного повреждения, активируя механизмы окислительного стресса, апоптоза, глутаматно-кальциевой эксайтотоксичности [7]. Таким образом, основываясь на имеющихся в настоящий момент представлениях о патогенезе ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях, можно предположить, что коррекция митохондриальной дисфункции при данных патологических состояниях будет способствовать формированию ряда терапевтических преимуществ.

Среди митохондриотропных соединений выделяют средства, увеличивающие активность митохондриальной дыхательной цепи (Карнитин, Рибофлавин, Коэнзим Q_{10}, Идебенон); осуществляющие биохимическое «шунтирование» митохондриальных реакций (Тиамин, Витамины С и К, Янтарная кислота и ее аналоги, Витамины С и К); средства антиоксидантного действия (Цистеин/N-ацетилцистеин); «буферы» макроэргов (Креатин), повышающие цитопротективные свойства монооксида азота (L-аргинин, эндотелиопротекторы), а также целенаправленно синтезированные пептиды, такие как SS-31 [8]. Однако, несмотря на наличие доступных митохондрио-позитивных веществ, перечень убедительных данных, касающихся безопасности и эффективности их использования, а также доклинических и клинических испытаний ограничен и представлен, как правило, изучением фармакологического действия искомых соединений при изолированных митохондриальных дефектах, таких как синдром MELAS [9]. В этой связи исследование возможности целенаправленной фармакокорекции нарушения функциональной активности митохондрий в условиях комплексного патологического процесса, например, нейродегенеративного поражения головного мозга, может представлять существенный научно-практический интерес. Ранее было продемонстрировано, что применение ряда соединений, относящихся к различным классам (производные пиримидина, хромона, халкона, гидроксикоричных кислот), способствует улучшению митохондриальной функции, при этом отмечалось, что наиболее выраженный эффект наблюдался на фоне введения веществ, содержащих 4-гидрокси-3,5-

ди-третбутилфенил [10]. На основании чего были целенаправленно синтезированы соединения, которые были включены в данное исследование в качестве анализируемых объектов.

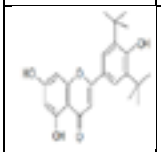
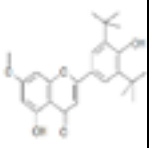
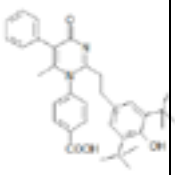
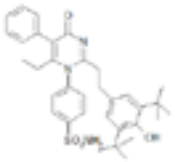
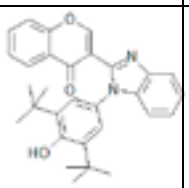
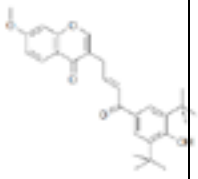
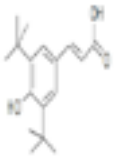
Цель работы – оценить влияние веществ-корректоров митохондриальной дисфункции на течение нейродегенеративного процесса (на примере болезни Альцгеймера) в эксперименте.

Материалы и методы

Исследование выполнено на крысах-самцах Wistar (n=10 в каждой экспериментальной группе). На время эксперимента животные размещались в полипропиленовых клетках со свободным доступом к полнорационному корму и воде при температуре окружающего воздуха 22±2^{0}C, относительной влажности – 65±5% и естественной смене суточного цикла.

В работе оценивалось влияние новых соединений (предоставлены Hunan warrant pharm. по предварительному заказу), содержащих 4-гидрокси-3,5-ди-требутилфенильный заместитель (табл.1) в дозе 50 мг/кг перорально [11]. В качестве референта использовали пептид SS-31 в дозе 50 мг/кг, внутрибрюшинно [12] на изменение митохондриальной функции в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера (БА). Сравнение показателей осуществляли с группами ложнооперированных животных и негативным контролем (НК).

Таблица 1. Структуры изучаемых соединений

MitoFL1	MitoFL2	MitoPYR1	MitoPYR2	Mito FC1	Mito FC2	ATACL
						

БА у крыс моделировали путем внутригиппокампальной инъекции фрагмента Аβ$_{1-42}$ в объеме 2 мкл и конечной концентрации 1 мм. Аβ$_{1-42}$ был получен от *Sigma-Aldrich* (Дармштадт, Германия). Перед инъекцией фрагменты Аβ$_{1-42}$ солюбилизировали в ледяном PBS (pH =7,4) при непрерывном перемешивании в течение 36 ч до образования фибриллярных агрегатов. Затем крыс анестезировали хлоралгидратом (внутрибрюшинно, 350 мг/кг), скальпировали теменную область, проделывали трепанационное отверстие при

периодическом охлаждении раствором 0,9% натрия хлорида и вводили $A\beta_{1-42}$ с помощью микродиспенсера объемом 5 мкл, подсоединенного к игле G30. Инъекция была выполнена в CA1-часть гиппокампа (передне-задняя = -3,8 мм, медиально-латеральная = 2,0 мм, дорсально-вентральная = 2,6 мм от брегмы). Игла оставалась в месте инъекции в течение 5 минут, после чего иглу извлекли, а хирургическую рану ушивали и обрабатывали 10%-ным раствором повидон-йода. Крыс оставляли под согревающей лампой до пробуждения [13].

Исследуемые соединения и SS-31 вводили на протяжении 60-ти дней с момента моделирования БА, после чего у крыс оценивали изменение рабочей пространственной памяти в тесте Y-образный лабиринт [14]. Далее крыс декапитировали, извлекали головной мозг, выделяя гиппокамп, который гомогенезировали ЭГТА (1 ммоль/л), маннит (215 ммоль/л), сахароза (75 ммоль/л), БСА (0,1% от общего объема), HEPES (20 ммоль/л), центрифугировали при 500g 5 минут. Полученный супернатант повторно центрифугировали при 14000g 10 минут. Вторичный супернатант наслаивали на 24% раствор Percoll, центрифугировали 5 минут при 18000g. Далее осадок ресуспендировали в среде выделения и центрифугировали при 14000g 5 минут. Удаляли полученный супернатант, осадок повторно ресуспендировали в среде выделения и удаляли для проведения анализа [15].

В полученной митохондриальной фракции оценивали изменение ан/аэробного метаболизма, концентрации апоптоз-индуцирующего фактора (АИФ) и митохондриального пероксида водорода ($MitoH_2O_2$).

Изменение клеточного дыхания оценивали с использованием лабораторного респирометра (АКПМ1-01Л производства «Альфа Бассенс», Россия). Аэробное дыхание оценивали по изменению потребления кислорода в культуре митохондрий на фоне введения 4 - (трифторметокси) фенил) гидразоно) малононитрила в концентрации 1 μм/мл) и пирувата 15 ммоль/л в качестве субстрата. Анаэробное дыхание оценивали при введении в анализируемую среду олигомицина 1 μг / мл и глюкозы 15 ммоль/л в качестве субстрата [15]. Содержание АИФ определяли методом ИФА с применением видоспецифичных наборов реактивов Cloud Clone. Концентрацию $MitoH_2O_2$ оценивали в резазуриновом тесте с использованием набора Amplex Red. Полученные результаты обрабатывали статистически, используя прикладной программный пакет «Statplus 7.0».

Результаты

В ходе исследования было показано, что у НК группы животных отмечено снижение интенсивности реакций аэробного метаболизма (табл.2) в сравнении с ложнооперированными крысами на 58,7% ($p<0,05$), сопровождаемое повышением активности анаэробных процессов, содержания АИФ и MitoH_2O_2 в 7,8; 2,5 и 4,1 раза соответственно (все показатели $p<0,05$). На фоне курсового введения животным SS-31 наблюдалось увеличение интенсивности аэробных реакций обмена на 106,6% ($p<0,05$) по отношению к НК группе крыс, при снижении интенсивности анаэробных реакций – на 79,7%, концентрации АИФ и MitoH_2O_2 – на 47,2% и 73,3% ($p<0,05$).

Применение анализируемых соединений также способствовало улучшению митохондриальной функции у животных с экспериментальной БА, что выражалось в повышении реакций аэробного обмена, снижении анаэробного, а также содержание АИФ и MitoH_2O_2. При этом, наиболее выраженный эффект отмечен при введении соединения ATACL, на фоне применение которого наблюдалось увеличение интенсивности реакций аэробного обмена в сравнении с НК группой крыс на 120,5% ($p<0,05$), снижении анаэробного обмена – на 77,3% ($p<0,05$), содержания АИФ – 45,3% ($p<0,05$, ANOVA, тест Ньюмена-Кейлса) и MitoH_2O_2 – 68,6% ($p<0,05$).

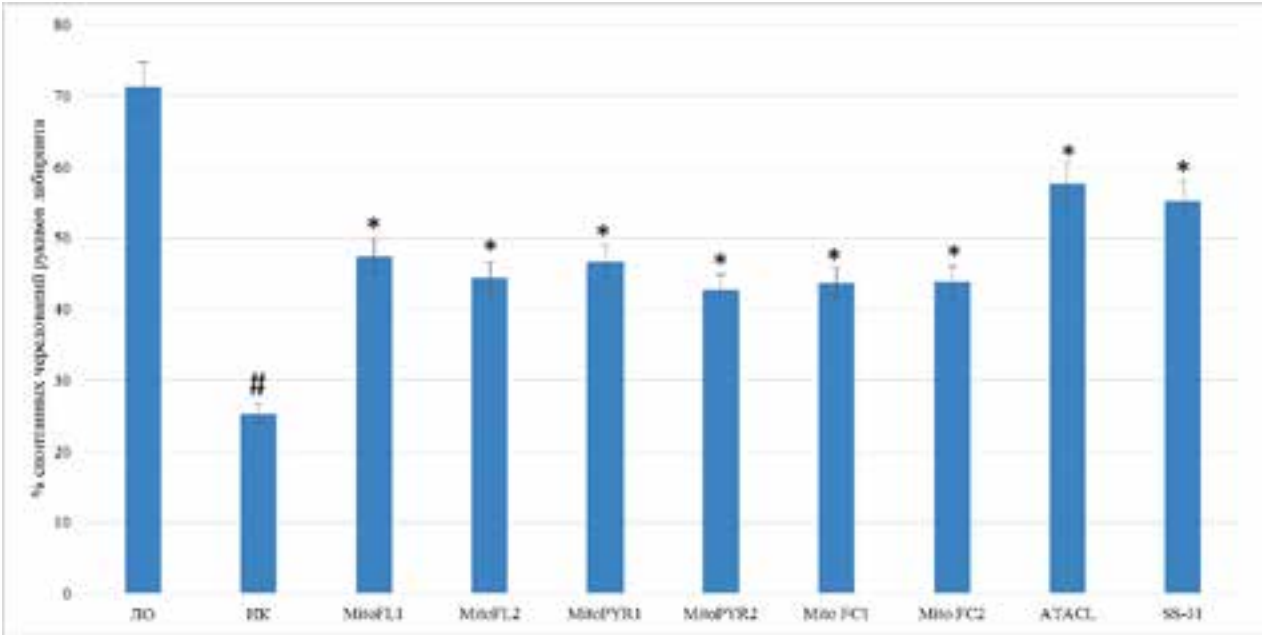
Кроме того, применение соединений MitoFL1; MitoFL2; MitoPYR1; MitoPYR2; Mito FC1 и Mito FC2 способствовало увеличению активности аэробного обмена по отношению к аналогичному показателю НК группы крыс на 83,3%; 74,1%; 57,6%; 63,4%; 61,7% и 81,3% соответственно (все показатели $p<0,05$). Также на фоне введения данных соединений отмечено достоверное снижение анаэробного обмена, концентрации АИФ и MitoH_2O_2 в ткани гиппокампа крыс с экспериментальной БА.

Таблица 2. Влияние анализируемых соединений на изменение митохондриальной функции клеток гиппокампа крыс с экспериментальной БА

Группа	Аэробное дыхание, ppm/мг белка	Анаэробное дыхание, ppm/мг белка	АИФ, нг/мл	MitoH_2O_2, ммоль/мг белка
ЛО	84,1±1,6	8,7±1,7	2,1±0,02	1,7±0,43
НК	34,7±0,7#	67,9±1,8#	5,3±0,44#	8,6±0,26#
MitoFL1	63,6±1,8*	29,7±1,4*	4,0±0,1*	4,9±0,42*
MitoFL2	60,4±1,9*	20,2±0,6*	3,9±0,34*	3,2±0,4*
MitoPYR1	54,7±0,8*	25,1±1,3*	3,5±0,21*	3,5±0,13*
MitoPYR2	56,7±0,5*	31,4±1,3*	3,9±0,13*	4,5±0,29*
Mito FC1	56,1±0,6*	28,7±1.0*	3,9±0,12*	5,4±0,1*
Mito FC2	62,9±1,3*	26,0±1,9*	4±0,23*	3,0±0,23*
ATACL	76,5±1,8*	15,4±0,8*	2,9±0,39*	2,7±0,27*
SS-31	71,7±1,1*	13,8±1,9*	2,8±0,28*	2,3±0,22*

Примечание: # - достоверно относительно ЛО группы (p<0,05, ANOVA, тест Ньюмена-Кейлса); * - достоверно относительно НК группы (p<0,05, ANOVA, тест Ньюмена-Кейлса).

Необходимо подчеркнуть, что при оценке изменения рабочей пространственной памяти у крыс (рис.1) было установлено, что у НК группы животных наблюдался выраженный когнитивный дефицит (процент спонтанных чередований рукавов креста уменьшился на 64,5% (p<0,05) в сравнении с ложнооперированными крысами). На фоне введения SS-31, а также анализируемых соединений MitoFL1; MitoFL2; MitoPYR1; MitoPYR2; Mito FC1; Mito FC2 и ATACL отмечено увеличение % спонтанных чередований рукавов лабиринта по отношению к нелеченым животным на 118,6%; 87,7%; 75,9%; 84,6%; 69,2%; 72,7%; 73,1% и 128,1%, соответственно (все показатели p<0,05).



Примечание: условные обозначения аналогичны таковым в таблице 2.

Рисунок 1. Влияние анализируемых соединений на изменение рабочей пространственной памяти крыс с экспериментальной БА

Заключение

На основании полученных данных можно предположить, что применение соединений, содержащих 4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенил, способствует улучшению митохондриальной функции клеток гиппокампа у крыс с экспериментальной БА, что в итоге приводило к снижению выраженности когнитивного дефицита. Важно отметить, что по выраженности эффекта анализируемые соединения не уступали классическому

митохондриотропному пептиду SS-31, что обуславливает перспективы их использования в разработке и клинических исследованиях для дальнейшей фармацевтической разработки и клинических исследований с целью создания нового класса митохондриально-ориентированных соединений, применяемых для терапии БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sorrentino V., Menzies K.J., Auwerx J. Repairing Mitochondrial Dysfunction in Disease // Annu Rev Pharmacol Toxicol - 2018. - Vol.6, No.58. P.353-389. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104908.

2. Gueguen N., Lenaers G., Reynier P., Weissig V., Edeas M. Mitochondrial Dysfunction in Mitochondrial Medicine: Current Limitations, Pitfalls, and Tomorrow // Methods Mol Biol - 2021. - Vol.2276. P.1-29. doi: 10.1007/978-1-0716-1266-8_1.

3. Abolhassani N., Leon J., Sheng Z., Oka S., Hamasaki H., Iwaki T., Nakabeppu Y. Molecular pathophysiology of impaired glucose metabolism, mitochondrial dysfunction, and oxidative DNA damage in Alzheimer's disease brain // Mech Ageing Dev - 2017. - Vol.161. P.95-104. doi: 10.1016/j.mad.2016.05.005.

4. He Z., Ning N., Zhou Q., Khoshnam S.E., Farzaneh M. Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke // Free Radic Biol Med - 2020. - Vol.146. P.45-58. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.005.

5. Perez Ortiz J.M., Swerdlow R.H. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: Role in pathogenesis and novel therapeutic opportunities // Br J Pharmacol - 2019 . - Vol.176, No.18. P.3489-3507. doi: 10.1111/bph.14585.

6. Bose A., Beal M.F. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. J Neurochem. 2016 Oct;139 Suppl 1:216-231. doi: 10.1111/jnc.13731. Epub 2016 Aug 21.

7. Benaroya H. Brain energetics, mitochondria, and traumatic brain injury // Rev Neurosci - 2020. - Vol.31, No.4. P.363-390. doi: 10.1515/revneuro-2019-0086.

8. Valenti D., Braidy N., De Rasmo D., Signorile A., Rossi L., Atanasov A.G., Volpicella M., Henrion-Caude A., Nabavi S.M., Vacca R.A. Mitochondria as pharmacological targets in Down syndrome // Free Radic Biol Med - 2018. - Vol.144. P.69-83. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.014.

9. Lorenzoni P.J., Werneck L.C., Kay C.S., Silvado C.E., Scola R.H. When should MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes)

be the diagnosis? // Arq Neuropsiquiatr - 2015. - Vol.73, No.11. P.959-67. doi: 10.1590/0004-282X20150154.

10. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Аджиахметова С.Л. и др. Митохондриальная дисфункция при нейродегенеративных и ишемических поражениях головного мозга. Экспериментальные и фармакологические аспекты. -Казань: Общество с ограниченной ответственностью "Бук", 2020. – 198 с. – ISBN 978-5-00118-474-4.

11. Поздняков Д. И., Зацепина Е. Е., Арльт А. В. Влияние соединений, содержащих 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенильную группировку, на активность митохондриальных ферментов и содержание тау-белка в гиппокампе крыс на экспериментальной модели болезни Альцгеймера // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2022. Т. 85, № 6. – С. 9-13. – doi 10.30906/0869-2092-2022-85-6-9-13.

12. Wu Y., Hao C., Han G., et al. SS-31 ameliorates hepatic injury in rats subjected to severe burns plus delayed resuscitation via inhibiting the mtDNA/STING pathway in Kupffer cells // Biochem Biophys Res Commun - 2021. - Vol.546. P.138-144. doi:10.1016/j.bbrc.2021.01.110

13. Rosales-Corral S.A., Lopez-Armas G., Cruz-Ramos J., et al. Alterations in Lipid Levels of Mitochondrial Membranes Induced by Amyloid-β: A Protective Role of Melatonin // Int J Alzheimers Dis - 2012. - Vol.2012. P.459806. doi:10.1155/2012/459806.

14. Jo K.W., Lee D., Cha D.G., Oh E., Choi Y.H., Kim S., Park E.S., Kim J.K., Kim K.T. Gossypetin ameliorates 5xFAD spatial learning and memory through enhanced phagocytosis against Aβ // Alzheimers Res Ther- 2022. - Vol.14, No.11. P.158. doi: 10.1186/s13195-022-01096-3.

15. Connolly NM.C, Theurey P., Adam-Vizi V., et al. Guidelines on experimental methods to assess mitochondrial dysfunction in cellular models of neurodegenerative diseases // Cell Death Differ - 2018. - Vol.25, No.3. P.542-572. doi:10.1038/s41418-017-0020-4

ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С СУИЦИДАЛЬНОЙ ПОПЫТКОЙ У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ

С.Б. Попова, М.С. Зинчук, Г.В. Кустов, Ф.К. Ридер
ГБУЗ НПЦ им. З.П. Соловьева ДЗМ, Москва, Россия

Введение

Риск смерти в результате суицидальной попытки среди пациентов с эпилепсией (ПЭ) в 3 раза выше по сравнению с общей популяцией [1]. В настоящее время известно несколько клинических и социодемографических факторов, повышающих суицидальный риск у ПЭ [2]. При этом влияние некоторых просуицидальных переменных, выявленных в общей популяции и других клинических субпопуляциях остается неизученным у ПЭ. К таким факторам относится несуицидальное самоповреждающее поведение (НССП) [3]. Включение данного параметра в список потенциальных факторов суицидального риска может способствовать повышению эффективности программ превенции суицидального поведения у ПЭ [4]. Настоящее исследование направлено на изучение факторов, ассоциированных с суицидальной попыткой (СП) у ПЭ.

Методы

В исследование включались последовательно набранные ПЭ старше 18 лет, наблюдавшиеся в Межокружных Отделениях Пароксизмальных Состояний города Москвы. Пациенты с когнитивным дефицитом и социокультуральной компетентностью ниже уровня, необходимого для понимания пунктов опросника и интервью, не включались в исследование. Все пациенты в целях скрининга наличия суицидальности и НССП отвечали на вопрос из русскоязычной версии структурированного интервью «Самоповреждающие Мысли и Поведение» (SITBI) [5] — «Возникали ли у Вас когда-нибудь мысли о самоубийстве?», «Совершали ли Вы когда-либо попытку самоубийства, имея при этом, хотя бы отчасти, намерение умереть?», «Наносили ли Вы когда-нибудь в жизни себе повреждения без цели убить себя?» и заполняли регистрационную карту участника, содержащие вопросы о социодемографических показателях. Все клинические данные, включая эпилептологические показатели, были получены с помощью Единой Медицинской Информационной Аналитической Системы (ЕМИАС).

В качестве статистических методов были использованы точный тест Фишера, тест Манна – Уитни и множественная логистическая регрессия.

Результаты

В исследование было включено 459 ПЭ. Средний возраст составил 45.2 (16.5) лет, 258 (56.2%) пациентов были женщинами, 404 (88%) пациентам была диагностирована фокальная форма эпилепсии, у 140 (30.5%) пациентов частота приступов составила более 2 в месяц, 183 (39.9%) пациента заявили об отсутствии у них приступов за предшествующие 12 месяцев (таб.1).

Таблица 1. Социо-демографические и клинические показатели участников

Показатель	Mean (SD)/ n (%)
Возраст (в годах)	45.2 (16.5)
Пол	
Мужской	201 (43.8%)
Женский	258 (56.2%)
Уровень образования	
Неоконченное среднее/среднее	80 (17.4%)
Среднее специальное	197 (42.9%)
Неоконченное/высшее	182 (39.7%)
Занятость	
Трудоустроен	167 (36.4%)
Не трудоустроен	292 (63.6%)
Семейное положение	
Холост/не замужем	168 (36.6%)
В браке	198 (43.1%)
Разведен/вдовствует	93 (20.3%)
Инвалидность	
Нет	317 (69.1%)
Есть	142 (30.9%)
Возраст на момент дебюта эпилепсии (в годах)	31.7 (19.6)
Продолжительность эпилепсии (в годах)	13.4 (12.3)
Вид эпилепсии	
Фокальная	404 (88%)
Генерализованная	34 (7.4%)
Неуточненная	21 (4.6%)
Вид приступов	
Фокальные без нарушения сознания	145 (31.6%)

Фокальные с нарушением сознания	260 (56.6%)
Билатеральные тонико-клонические	284 (61.9%)
Миоклонические	11 (2.4%)
Другие	12 (2.6%)
Частота приступов	
Не было приступов за последний год и более	183 (39.9%)
1-11 приступов в год	136 (29.6%)
2 и более приступов в месяц	140 (30.5%)
Количество ПЭП*	
0	7 (1.5%)
1	294 (64.1%)
2	126 (27.4%)
3 и более	32 (7.0%)
Этиологические факторы развития фокальной эпилепсии	
ЧМТ	74 (16.1%)
Сосудистые факторы (нарушения кровообращения и др.)	61 (13.3%)
Опухоли мозга	45 (9.8%)
Нейродегенеративные заболевания	6 (1.3%)
Аутоиммунные заболевания	8 (1.7%)
Нейроинфекции	6 (1.3%)
Коморбидные расстройства	
Церебральный паралич	9 (2%)
ВИЧ	7 (1.5%)
Артериальная гипертензия	162 (35.3%)
Сахарный диабет	25 (5.4%)
Онкологические заболевания	38 (8.3%)
Злоупотребление ПАВ	32 (7%)

*ПЭП-противоэпилептические препараты

Распространенность СП в нашей выборке в течение жизни и за предшествующие 12 месяцев составила 8.3% и 0.7%, соответственно. Распространенность НССП в течение жизни составила 15.3%, а за предшествующие 12 месяцев - 2.8%.

В унивариантом анализе СП были ассоциированы с уровнем образования, наличием группы инвалидности, черепно-мозговой травмой (ЧМТ) в анамнезе, злоупотреблением ПАВ в анамнезе и наличием НССП в течении жизни (таб. 2).

Таблица 2. Результат унивариантного анализа факторов, ассоциированных с СП

	Mean (SD)/n (%)		**p-value**
	СП+ n=38	**СП- n=421**	
Возраст (в годах)	41.9 (14.2)	45.5 (16.7)	p=0.254[a]
Пол			
Мужской	15 (39.5%)	186 (44.2%)	p=0.612[b]
Женский	23 (60.5%)	235 (55.8%)	
Уровень образования			
Неоконченное среднее/среднее	11 (28.9%)	69 (16.4%)	p=0.022[b]
Среднее-специальное	19 (50%)	178 (42.3%)	
Неоконченное/высшее	8 (21.1%)	174 (41.3%)	
Занятость			
Трудоустроен	13 (34.2%)	154 (36.6%)	p=0.861[b]
Нетрудоустроен	25 (65.8%)	267 (63.4%)	
Семейное положение			
Холост/не замужем	15 (39.5%)	153 (36.3%)	p=0.228[b]
В браке	12 (31.6%)	186 (44.2%)	
Разведен/вдовствует	11 (28.9%)	82 (19.5%)	
Инвалидность			
Нет	20 (52.6%)	297 (70.5%)	P=0.028[b]
Есть	18 (47.4%)	124 (29.5%)	
Возраст на момент дебюта эпилепсии (в годах)	26.3 (16.4)	32.2 (19.8)	p=0.123[a]
Продолжительность эпилепсии (в годах)	15.5 (11.8)	13.3 (12.3)	p=0.113[a]
Вид эпилепсии			
Фокальная	37 (97.4%)	367 (87.2%)	p=0.143[b]
Генерализованная	0 (0%)	34 (8.1%)	
Неуточненная	1 (2.6%)	20 (4.7%)	
Вид приступов			
Фокальные без нарушения сознания	11 (28.9%)	134 (31.8%)	p=0.856[b]
Фокальные с нарушением сознания	28 (73.3%)	232 (55.1%)	p=0.027[b]
Билатеральные тонико-клонические	23 (60.5%)	261 (62%)	p=0.863[b]

Миоклонические	0 (0%)	11 (2.6%)	p=0.611[b]
Другие	0 (0%)	12 (2.9%)	p=0.611[b]
Частота приступов			
Не было приступов за последний год и более	10 (26.3%)	173 (41.1%)	p=0.132[b]
1-11 приступов в год	16 (42.1%)	120 (28.5%)	
2 и более приступов в месяц	12 (31.6%)	128 (30.4%)	
Количество ПЭП*			
0	0 (0%)	7 (1.7%)	
1	19 (50%)	275 (65.3%)	p=0.108[b]
2	17 (44.7%)	109 (25.9%)	
3 и более	2 (5.3%)	30 (7.1%)	
Этиология фокальной эпилепсии			
ЧМТ	15 (39.5%)	59 (14%)	p<0.001[b]
Нейроинфекции	2 (5.3%)	4 (1%)	p=0.081[b]
Сосудистые факторы (нарушения кровообращения и др.)	3 (7.9%)	58 (13.8%)	p=0.453[b]
Аутоиммунные заболевания	1 (2.6%)	7 (1.7%)	p=0.502[b]
Опухоли мозга	4 (10.5%)	41 (9.7%)	p=0.779[b]
Нейродегенеративные заболевания	0 (0%)	6 (1.4%)	p=1[b]
Коморбидные расстройства			
Злоупотребление ПАВ	9 (27.3%)	23 (5.5%)	p<0.00[b]
Артериальная гипертензия	10 (26.3%)	152 (36.1%)	p=0.288[b]
ВИЧ	1 (2.6%)	6 (1.4%)	p=0.456[b]
Онкологические заболевания	4 (10.5%)	34 (8.1%)	p=0.541[b]
Церебральный паралич	1 (2.6%)	8 (1.9%)	p=0.544[b]
Сахарный диабет	1 (2.6%)	24 (5.7%)	p=0.711[b]
НССП в течение жизни	19 (50%)	51 (12.1%)	p<0.001[b]

[a]– тест Манна – Уитни, [b] – точный тест Фишера

В мультивариантом анализе наличие а анамнезе ЧМТ (OR=3.14; 95%CI=1.38-7.13) и злоупотребления ПАВ (OR=3.81; 95%CI=1.41-10.33), наличие НССП в течение жизни (OR=7.31; 95%CI=3.41-15.69), а также низкий уровень образования (OR=0.31; 95%=CI=0.11-0.91) были ассоциированы с СП (таб. 3).

Таблица 3. Результаты мультивариантного анализа факторов, ассоциированных с СП

Суицидальные попытки		
Уровень образования		
Среднее-специальное	0.836 (0.340-2.052)	p=0.696
Неоконченное/высшее	0.325 (0.112-0.941)	p=0.038
Инвалидность (Нет-Есть)	1.567 (0.729-3.369)	p=0.250
Фокальные приступы с нарушением сознания (Нет-Есть)	2.537 (1.084-5.938)	p=0.032
Черепно-мозговая травма (Нет-Есть)	2.926 (1.281-6.682)	p=0.011
Злоупотребление ПАВ (Нет-Есть)	3.754 (1.368-10.299)	p=0.010
НССП в течение жизни (Нет-Есть)	8.948 (3.638-17.364)	p<0.001

Вывод

Суицидальное поведение и НССП широко распространены среди пациентов с эпилепсией. ПЭ с более низким уровнем образования, ЧМТ и злоупотреблением ПАВ в анамнезе, наличием НССП в течение жизни имеют более высокий риск совершения суицидальной попытки. НССП является перспективным фактором для включения в системы скрининга суицидального риска у ПЭ. Необходима разработка программ профилактики НССП у ПЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abraham N. et al. A Meta-Analysis of the Rates of Suicide Ideation, Attempts and Deaths in People with Epilepsy // Int J Environ Res Public Health. Int J Environ Res Public Health, 2019. Vol. 16, № 8.
2. Zinchuk M.S. et al. [Suicidality in epilepsy: epidemiology and clinical risk factors] // Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2018. Vol. 118, № 10. Vyp. 2. P. 45–52.
3. Zinchuk M.S., Avedisova A.S., Guekht A.B. Nonsuicidal self-injury behavior in non-psychotic disorders: Epidemiology, social and clinical risk factors // Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova. Media Sphera Publishing Group, 2019. Vol. 119, № 3. P. 108–119.
4. Zinchuk M.S. et al. [Suicidological research in epilepsy: problems of methodology] // Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2019. Vol. 119, № 11. Vyp. 2. P. 23–28.
5. Nock M.K. et al. Self-Injurious Thoughts and Behaviors Interview: development, reliability, and validity in an adolescent sample // Psychol Assess. Psychol Assess, 2007. Vol. 19, № 3. P. 309–317.

ФАКТОРЫ СРЕДЫ, ФОРМИРУЮЩИЕ СОСТОЯНИЕ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ

А.Р. Примачёва, Т.П. Сабгайда, Е.А. Сухоруков, Н.Н. Музыкантова

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Заболеваемость психическими расстройствами, формируя социально-экономические проблемы для общества, одновременно является зависимой величиной от социально-экономических условий жизни населения. Для определения актуальных путей снижения напряжённости такой взаимосвязи следует знать факторы, ухудшающих психологическое здоровье населения, и конкретные статистические показатели, отражающие их влияние на популяционном уровне.

Целью исследования явился анализ связи заболеваемости психическими расстройствами населения субъектов Российской Федерации с показателями, отражающими влияние социально-экономических факторов на психологическое состояние населения.

Материалы и методы

Использовались официальные данные Росстата и Минздрава России. Методика исследования заключается в комплексном анализе социально-экономических показателей, ассоциированных с факторами, оказывающими влияние на психологическое состояние населения. Параллельно с показателем заболеваемости от психических расстройств анализировались показатели смертности от них, а также показатели смертности от самоубийств и от причин, связанных с употреблением психоактивных веществ. Анализ проводился с применением методов корреляционного, факторного и кластерного анализов рангов значений показателей, а также сравнения средних значений показателей в полученных кластерах с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты

Статистически значимые и очень слабые коэффициенты корреляции с заболеваемостью населения субъектов Российской Федерации психическими расстройствами имеют число пенсионеров и мощность амбулаторно-поликлинических организаций при их расчёте на численность населения ($\rho = 0{,}29$ и $\rho = 0{,}28$, соответственно). Кластерный анализ методом дендрограмм позволил отобрать 10 параметров, влияющих на заболеваемость населения психическими расстройствами, и разделить их на три группы. Полученное разделение соответствует результатам факторного анализа. Районирование территории Российской

Федерации на основе отобранных параметров принципиально согласуется, но не совпадает с районированием по уровню заболеваемости.

Заключение

Заболеваемость психическими расстройствами в достаточной мере отражает социально-экономические условия жизни населения. Численность пенсионеров и мощность амбулаторно-поликлинических организаций в расчёте на население, доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума, уровень безработицы, коэффициент демографической нагрузки, объём платных услуг в пересчёте на население, обеспеченность врачами и средним медицинским персоналом, степень износа основных фондов в совокупности формируют три фактора, способствующие росту заболеваемости психическими расстройствами: это факторы, соответствующие урбанизации, постарению населения в условии слабого экономического развития региона, а также бурному экономическому развитию региона. В текущий период наибольшее влияние на заболеваемость российского населения оказывает постарение населения в условии слабого экономического развития региона.

***Ключевые слова*:** *факторы среды, психического здоровья, факторы урбанизации, факторы постарения населения*

ENVIRONMENTAL FACTORS THAT IMPACT MENTAL HEALTH OF THE POPULATION

A.R. Primachova[1], T.P. Sabgayda[1], E.A. Sukhorukov[1], N.N. Muzykantova[1]

[1]Russian Research Institute of Health

Incidence of mental disorders, forming socio-economic problems for society, is at the same time a dependent value on socio-economic living conditions of the population. To determine actual ways to reduce tension of such relationship, it is necessary to know factors that worsen psychological health of the population as well as specific statistical indicators reflecting their impact at population level.

Purpose of the study was to analyze relationship between incidence of mental disorders in population of Russian regions with indicators reflecting influence of socio-economic factors on population psychological state.

Materials and methods

Official data from Rosstat and the Ministry of Health of the Russia were used. Research methodology consists in a comprehensive analysis of socio-economic indicators associated with factors influencing psychological state of population. In parallel with the morbidity rate from mental disorders, mortality rates from them, as well as mortality rates from causes related to substance use and suicide, were analyzed. In parallel with the morbidity rate from mental disorders, mortality rates from them, as

well as mortality rates from causes related to substance use and suicide, were analyzed. The analysis was carried out using methods of correlation, factorial and cluster analysis of the ranks of indicator values, as well as comparing the average values of indicators in the obtained clusters using the Student's t-test.

Results

The number of pensioners and capacity of outpatient health care facilities per population ($\rho = 0.29$ and $\rho = 0.28$, respectively) have statistically significant and very weak correlation coefficients with the incidence of mental health disorders in the constituent entities of the Russian Federation. The dendrogram cluster analysis made it possible to select 10 parameters affecting incidence of mental health disorders in population and divide them into three groups. The obtained division corresponds to the factor analysis results. The territory zoning of the Russian Federation on the basis of the selected parameters is fundamentally consistent, yet does not coincide with the zoning by incidence.

Conclusion

The incidence of mental health disorders adequately reflects socio-economic conditions of the population. The number of pensioners and capacity of outpatient health care facilities per population, share of people with income below the subsistence minimum, unemployment rate, dependency ratio, volumes of paid services per population, doctor and nurse to population ratio and ware-out rate of fixed assets all combined create the following three factors contributing to higher incidence of mental health disorders: factors associated with urbanization, population ageing in the context of weak economic development of the region, as well as rapid economic development of the region. In the current period, population ageing in the context of weak economic development of the region has the highest impact on the incidence of mental health disorders in Russia.

Keywords: *environmental factors, mental health factors, urbanization factors, population aging factors*

Распространенность психических расстройств во всем мире сегодня является не только медико-социальной, но и экономической проблемой. Хотя по данным Росстата в России психическая заболеваемость за период с 2005 по 2020 год планомерно снижается, проблема психического здоровья россиян стоит достаточно остро. Показано, что на фоне снижения первичной заболеваемости психическими расстройствами лиц трудоспособного возраста растет заболеваемость лиц крайних возрастных групп (детей и стариков) [Демчева, Н. К., Грищенко, Я. А. (2011).]. Исследователи считают, что снижения общей заболеваемости не происходит (или оно не очень существенно), поскольку общее количество лиц, обращающихся в психоневрологические диспансеры, за последние 20 лет выросло за счёт обращений за

консультативной помощью (и это без учёта обращений в частные медицинские и психологические центры) [Мартынихин И. 2016].

По мнению специалистов, на сегодняшний день разработка и внедрение эффективных индивидуальных и популяционных подходов к воздействию на прямые и периферийные факторы риска способны значительно снизить заболеваемость и смертность российского населения от психических расстройств [Никифоров С. А., Алленов А. М., Арестова А. А., Львова Д. П., Алехин С. Г. 2020]. Ряд социально-экономических факторов объективно влияют на психологическое состояние населения, могут повышать частоту психических расстройств и расстройств поведения. Так, воздействие социума, условия быта, стрессы и неблагоприятные экономические факторы в совокупности влияют на возникновение депрессии [Тювина Н.А., Высокова В.О., Максимова Т.Н., Прохорова С.В. 2021]. При этом вероятность развития депрессий в неблагоприятных условиях повышается и на генетическом уровне, так как проявления генов меняется в зависимости от условий среды [Егорова М.С., Черткова Ю.Д. 2011].

В общем, основные социально-экономические факторы риска развития психических расстройств известны. Одним из наиболее мощных предикторов психического здоровья является бедность населения. Она может вызывать отчуждение и напряжение, но особо значимо её прямое и косвенное влияние на развитие и поддержание эмоциональных, поведенческих и психических расстройств [Артемьев И.А., Владимирова С.В. 2020]. Безработица также является одним из значимых факторов риска развития депрессии и суицидального поведения [Kposowa A.J. 2001]. С позиции концепции социально-стрессовых расстройств, безработица приводит к психической дезадаптации, которая проявляется в форме донозологических расстройств. Отмечается высокая распространенность психогенно обусловленных депрессивных и тревожных расстройств среди лиц, утративших работу [Артемьев И.А. 2021].

Урбанизация населения приводит к негативным последствиям для психического здоровья: ускоренный темп современной жизни, необходимость быстрого принятия решений, многозадачность трудового процесса, а также увеличение количества источников информации приводят к формированию эмоционального напряжения [Коблова А.А., Кром И.Л., Новичкова И.Ю. 2012]. Визуальная среда является важным экологическим фактором, влияющим в том числе и на психическое здоровье населения. Так, архитектурная экология, стандартное строительство и техногенный уклад жизни городского населения ведут к росту социальной напряженности, нервозности, психологическим проблемам [Толстая, Е. В., Козелько Н. А. 2019.]. Отметим, что не только сама неблагоприятная урбанистическая и современная архитектурная среда оказывает негативное влияние на психическое состояние, так еще и ее изношенный внешний вид негативно сказывается на психическом состоянии людей.

На заболеваемость психическими расстройствами оказывает влияние обеспеченность врачами-психиатрами, поскольку адекватный уровень обеспеченности участковыми психиатрами способствует выявлению психических расстройств и своевременной постановке больных на диспансерный учет. В России изучение показателей укомплектованности населения участковыми врачами-психиатрами констатировало острый дефицит кадров в текущий период [Гайдаров Г. М., Апханова Н. С., Душина Е. В., Ворсина О. П., Алехин И.Н. 2021].

Также важное значение для психического благополучия человека оказывает наличие соматических заболеваний в анамнезе. Исследование ЭССЕ-РФ3 выявило, что уровень тревоги и депрессии статистически значимо выше у лиц старшего возраста и с наличием заболеваний в анамнезе [Евстифеева С.Е., Шальнова С.А., Куценко В.А., Баланова Ю.А., Имаева А.Э., Капустина А.В. и др. 2023]. По данным ВОЗ, более 20% россиян в возрасте от 60 лет имеют психологические заболевания [Психологические заболевания пожилых России]. С возрастом человеку становится труднее контролировать свое психическое состояние, поэтому появляются тревоги и фобии, проблемы с настроением, проблемы в коммуникациях, при этом накапливаются хронические заболевания, возникает мультиморбидность. При некоторых соматических (кардиологических, пульмонологических, онкологических, ревматологических) заболеваниях распространенность тревожных расстройств составляет от 48% до 90% [Смулевич А.Б. 2019]. Следовательно, пожилой возраст также является фактором риска развития психических расстройств.

Влияние указанных факторов выявлено на индивидуальном уровне, на уровне отдельных социальных групп или в отдельных регионах. Остаётся открытым вопрос, какие из них проявляют своё влияние на различие уровня заболеваемости психическими расстройствами между субъектами Российской Федерации в текущий период?

Несмотря на существенные достижения в оптимизации работы психиатрической службы и смещения акцента ее оказания на внебольничные формы медицинской помощи, которые стали возможны благодаря Порядку оказания медицинской помощи при психических расстройствах от 2012 года, сохраняется ряд не решенных в настоящее время проблем, и в первую очередь это проблема оказания помощи пациентам с непсихотическими психическими расстройствами (депрессивные, тревожные, соматоформные расстройства), оказание медицинской помощи на начальных этапах заболевания психическими расстройствами [Костюк Г.П. 2023;]. В случае некорректируемого состояния при психических расстройствах человеку становится сложно управлять собственными эмоциями, поведением и общением с окружающими [Демчева Н. К. 2021.]. Это ухудшает не только качество жизни больного, но и увеличивает психологическую нагрузку на контактирующих с ним лиц, включая медицинских работников общей лечебной сети. Согласно докладам ВОЗ, до 40% пациентов соматической медицины не нуждаются ни в какой

медицинской помощи, кроме психотерапии [Решетников М.М. 2015.]. Соответственно, пациенты со сравнительно легкими психическими расстройствами вносят свой вклад в формирование профессионального выгорания медицинских работников, поскольку взаимодействие с такими пациентами редко позволяет достичь удовлетворённости своей деятельностью, которая препятствуют появлению синдрома эмоционального выгорания [Петри, А. Н. (2017).]. Специалисты и в допандемический период отмечали неуклонный рост уровня их профессионального выгорания [Матюшкина Е.Я., Рой А.П., Рахманина А.А., Холмогорова А.Б.], и эта тенденция на фоне пандемии ускорилась [Малютина, Т. В., Цыганкова, О. Ю., Лонская, Л. В. (2021)]. Если учесть, что в мире приблизительно один из десяти человек имеет расстройство психического здоровья [Гайдаров Г. М., Апханова Н. С., Душина Е. В., Ворсина О. П., Алехин И. Н. 2021], то этот факт может играть существенную роль в формировании эмоционального выгорания, что еще раз подчёркивает значимость проблемы психического здоровья населения.

Знание объективных факторов, ухудшающих психическое здоровье населения отдельных регионов, послужит не только дополнительным обоснованием помощи отдельным субъектам в улучшении условий жизни населения, но и обоснованием внедрения мер помощи медицинским работникам (равно как и другим специалистам, ежедневно работающим с населением) для повышения их психологической устойчивости при взаимодействии с пациентами, при разработке программ предупреждения синдрома эмоционального выгорания. Для практического использования такого знания следует определить не только факторы, но и конкретные статистические показатели, отражающие их влияние на популяционном уровне.

Целью исследования явился анализ связи заболеваемости психическими расстройствами населения субъектов Российской Федерации с показателями, отражающими влияние социально-экономических факторов на психологическое состояние населения.

Материалы и методы

Данная статья направлена на поиск взаимосвязи уровня заболеваемости населения психическими расстройствами с показателями социально-экономических условий жизни, чтобы сделать дальнейший вывод – какие социально-экономические показатели отражают формирование региональные вариации психического здоровья населения. Поскольку показатель заболеваемости психическими расстройствами не в полной мере отражает их распространённость среди населения, мы проанализировали также показатели смертности, свидетельствующие о состоянии психического здоровья населения.

Социально-экономические показатели взаимосвязаны между собой и их связь с психическим здоровьем населения часто опосредована рядом факторов. Поэтому для выявления актуальных показателей мы использовали разные методы многомерной статистики.

Базу исследования составили 9 показателей психологического здоровья населения и 11 социально-экономических показателей, ассоциированных с факторами риска развития психических расстройств. В качестве показателей психического здоровья мы использовали:

- Заболеваемость психическими расстройствами взрослого населения с диагнозом, установленным впервые в жизни на 100 тыс. населения;
- Смертность всего населения от психических расстройств на 100 тыс. населения;
- Смертность, обусловленная алкоголем (коды по МКБ-10 F10.0, F10.1, F10.2, F10.3, F10.6, F10.8, F10.9, F10.4-5, F10.6 (часть), F10.7, G31.2, G62.1, G72.1, I42.6, K29.2, K70, K86.0, Q86.0, X45, X65, Y15, K86.0) на 100 тыс. населения, мужчины
- Смертность, обусловленная алкоголем на 100 тыс. населения, женщины
- Смертность, обусловленная алкоголем на 100 тыс. населения, оба пола
- Смертность, связанная с наркотиками, (F11, F12, F14, X42, Y12) на 100 тыс. населения, мужчины
- Смертность, связанная с наркотиками, на 100 тыс. населения, женщины
- Смертность, связанная с наркотиками, на 100 тыс. населения, оба пола
- Смертность от самоубийств

Анализировали следующие социально-экономические показатели:

- Доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума, %
- Уровень безработицы, %
- Число автобусов общего пользования на 100 тыс. населения
- Коэффициент демографической нагрузки
- Коэффициент естественного прироста населения на 1000 населения
- Число пенсионеров на 1000 населения
- Объём платных услуг на 1000 населения
- Мощность амбулаторно-поликлинических организаций на 10 тыс. населения
- Обеспеченность врачами на 10 тыс. населения
- Обеспеченность средним медицинским персоналом на 10 тыс. населения
- Степень износа основных фондов, %

Информация о заболеваемости взрослого населения субъектов Российской Федерации психическими расстройствами за 2021 год брались из сборника ЦНИИОИЗ [Заболеваемость взрослого населения России в 2021 году]. Использовались официальные данные Росстата о смертности населения субъектов Российской Федерации за 2021 год. Информация о показателях социально-экономических факторов в субъектах Российской Федерации бралась из

статистического сборника Росстата "Регионы России. Социально-экономические показатели 2022".

На первом шаге проводился корреляционный анализ всех 20 показателей. Анализируемые переменные ранжировались по возрастанию, и в анализе использовались ранги субъектов по каждой переменной. Использовался непараметрический Коэффициент корреляции Спирмена (ρ).

Далее проводился кластерный анализ методом построения дендрограмм, чтобы выявить взаимосвязь анализируемых показателей: наиболее близкие показатели объединяются в один объект на первых шагах кластеризации, к ним присоединяются следующие ближайшие с точки зрения евклидового расстояния, на последнем шаге происходит объединение всего рассматриваемого набора показателей. В анализе использовались рангов параметров, поскольку разброс значений параметров чрезвычайно велик, что отражается на процессе кластеризации на основе евклидовых расстояний. Сначала определялись взаимосвязи в группе всех 20 анализируемых показателей, а затем в группе: заболеваемость и связанные с ней социально-экономические показатели (отобранных по результатам первой кластеризации).

Далее, для отобранных по результатам кластеризации показателей мы использовали факторный анализ с целью выявления формируемых ими факторов, а также для выявления явных и скрытых взаимосвязей между показателями внутри этих факторов.

На следующем шаге с помощью кластерного анализа с алгоритмом k-средних (метод векторного квантования) мы разбили все субъекты Российской Федерации на три кластера по значениям отобранных показателей. В этом методе n наблюдений разбиваются на k кластеров, в которых каждое наблюдение принадлежит кластеру с ближайшим средним или ближайшим центроидом. Провели разбиение на три группы, чтобы получить варианты «плохо», «средне», «хорошо».

На последнем шаге мы показали целесообразность использования отобранных социально-экономических показателей для выявления субъектов Российской Федерации, нуждающихся в дополнительных мерах по снижению риска развития психических расстройств у населения. Для этого мы провели сравнение средних значений анализируемых социально-экономических показателей с помощью t-критерия Стьюдента в полученных кластерах, а также между 15 субъектами с наибольшими и 15 субъектами с наименьшими значениями показателя заболеваемости психическими расстройствами.

Статистическая обработка данных осуществлялась на основе комплекса современных методов автоматизированного хранения и обработки информации с использованием программных продуктов, входящих в состав интегрированного пакета Microsoft Office™ XP, а также программного пакета для статистической обработки данных Statsoft Statistica 6.1.

Цель исследования – выявить показатели социально-экономических условий жизни населения, оказывающих влияние на заболеваемость населения психическими расстройствами на популяционном уровне.

Результаты

Результаты корреляционного анализа не свидетельствуют, что все выбранные нами показатели связаны с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне. В таблице 1 приведены коэффициенты ранговой корреляции Спирмена для заболеваемости психическими расстройствами (N1**)** и смертности от них (N2), а также для смертности от самоубийств и самоповреждений (N9). Видим, что коррелируемые с этими переменными параметры не совпадают, и все выявленные корреляционные связи очень слабые.

Таблица 1. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена и их уровень значимости (p) для заболеваемости психическими расстройствами и смертности от них, а также для смертности от самоубийств и самоповреждений

Параметры		**Коэффициенты корреляции**					
Код	**Название**	**N1**		**N2**		**N9**	
N1	Заболеваемость ПР	1	p= ---	0,19	p=,089	0,12	p=,272
N2	Смертность от ПР	0,19	p=,089	1	p= ---	0,12	p=,287
N3	Алкогольная смертность, оба пола	0,28*	p=,010	0,24	p=,026	0,40	p=,000
N4	Алкогольная смертность, жен.	0,24	p=,030	0,10	p=,381	0,46	p=,000
N5	Алкогольная смертность, муж.	0,29	p=,008	0,28	p=,010	0,37	p=,000
N6	Наркотическая смертность, оба пола	0,06	p=,563	0,13	p=,236	-0,15	p=,173
N7	Наркотическая смертность, жен.	0,04	p=,715	0,05	p=,651	-0,24	p=,024
N8	Наркотическая смертность, муж.	0,03	p=,782	0,13	p=,232	-0,12	p=,294
N9	Смертность от самоубийств	0,12	p=,272	0,12	p=,287	1	p= ---
N10	Доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума	-0,17	p=,128	-0,10	p=,376	0,30	p=,006
N11	Уровень безработицы	-0,20	p=,073	-0,23	p=,035	0,30	p=,006
N12	Число автобусов на 100 тыс. нас.	-0,14	p=,202	-0,08	p=,481	-0,20	p=,073
N13	Коэффициент демограф. нагрузки	0,11	p=,331	0,14	p=,188	0,31	p=,004
N14	Коэффициент естественного прироста населения	0,08	p=,458	-0,04	p=,690	0,24	p=,028
N15	Число пенсионеров на 1000 нас.	0,29	p=,007	0,19	p=,080	0,14	p=,214
N16	Объём платных услуг на 1000 нас.	0,10	p=,357	-0,11	p=,335	-0,16	p=,144
N17	Мощность амбулаторно-поликлинических организаций	0,28	p=,011	0,11	p=,311	0,22	p=,044
N18	Обеспеченность врачами	0,04	p=,712	-0,07	p=,548	-0,14	p=,215
N19	Обеспеченность средним медицинским персоналом	0,01	p=,893	-0,06	p=,565	0,24	p=,029
N20	Степень износа основных фондов	0,19	p=,081	0,16	p=,137	-0,07	p=,533

- Статистически значимые корреляции выделены цветом

Статистически значимые коэффициенты корреляции с заболеваемостью населения субъектов Российской Федерации психическими расстройствами имеют лишь пять показателей (а фактически три): смертность мужчин, женщин и лиц обоего пола, связанная с алкоголем, число пенсионеров на 1000 населения и мощность амбулаторно-поликлинических организаций. Со смертностью от психических расстройств положительно коррелируют смертность мужчин и лиц

обоего пола, связанная с алкоголем, и отрицательно уровень безработицы. Со смертностью от самоубийств и самоповреждений положительно коррелируют смертность мужчин, женщин и лиц обоего пола, связанная с алкоголем, доля населения с доходами ниже прожиточного минимума, уровень безработицы, коэффициент демографической нагрузки, коэффициент естественного прироста, мощность амбулаторно-поликлинических организаций, обеспеченность населения средним медицинским персоналом, а смертность женщин от причин, связанных с употреблением наркотиков, коррелирует со знаком минус.

Отметим, что наибольшее значение парного рангового коэффициента корреляции между социально-экономическими показателями выявлено между показателями «Доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума» и «Объём платных услуг в расчёте на 1000 населения» ($\rho = -0{,}615$), что отражает относительную независимость отобранных параметров.

Кластерный анализ методом построения дендрограмм подтвердил, что связь заболеваемости психическими расстройствами с анализируемыми социально-экономическими показателями не велика, и это отражается присоединением переменной N1 (заболеваемость психическими расстройствами) к «грозди» ранее объединённых показателей на последних шагах построения дендрограммы (рис. 1А). На следующем шаге кластеризации после присоединения переменной N1 присоединяется переменная N2 (смертность от психических расстройств, затем присоединяются показатели «Число автобусов на 100 тыс. населения» и «Коэффициент естественного прироста населения». То есть последние два показателя не включены в систему формирования психического здоровья населения условиями жизни.

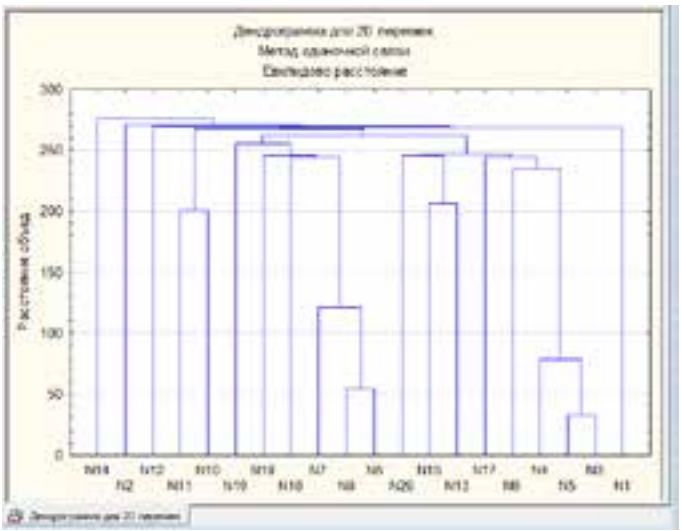


Рисунок 1А. Дендрограмма объединения анализируемого набора параметров (обозначения см. в таблице 1)

На первых шагах кластеризации объединились смертность мужчин, женщин и всего населения от причин, связанных с алкоголем (N3-N5), и смертность мужчин, женщин и всего населения от причин, связанных с наркотиками (N6-N8). Остальные показатели с гораздо большим евклидовым расстоянием последовательно присоединяются к этим объединениям: к алкогольной смертности, начиная со смертности от самоубийств и самоповреждений (N9), к

наркотической смертности, начиная с объёма платных услуг в пересчёте на 1000 населения. До включения переменной N1 наблюдается три «грозди из девяти переменных: связанных с алкогольной компонентой, связанных с наркотической компонентой и связанных с бедностью населения (N10 - доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума и N11- уровень безработицы).

При группировке итогового набора социально-экономических показателей, которые связаны с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне (без учёта параметров, присоединяемых к общей системе после переменной N1 в ходе кластеризации методом построения дендрограммы) формируются эти же три «грозди», связанные с алкогольной компонентой, наркотической компонентой и с бедностью населения (рис. 1В).

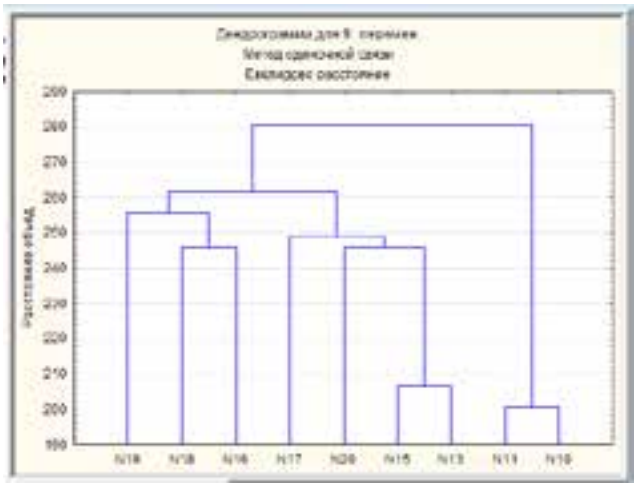


Рисунок 1В. Дендрограмма объединения анализируемого набора социально-экономических показателей, связанных с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне (обозначения см. в таблице 1)

Для отобранных девяти показателей мы провели факторный анализ с целью уточнения взаимосвязей между ними. Результаты факторного анализа свидетельствуют об относительной устойчивости выявленных связей, однако место одного показателя в системе взаимосвязей оказалась иным. В целом, подтверждено наличие трёх факторов в пространстве социально-экономических показателей, связанных с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне (рис. 2). Сформировано три фактора риска развития психических расстройств, в которых статистически значимые факторные нагрузки найдены для параметров, определяющих одну их трёх выделенных кластерным анализом групп. Во всех факторах факторные нагрузки показателя заболеваемости психическими расстройствами положительны, и самая большая приходится на Фактор 1. В нём наибольшие факторные нагрузки имеют показатели, входящие в «алкогольную» гроздь дендрогаммы. Этот фактор способствует росту заболеваемости психическими расстройствами и определяется большой демографической

нагрузкой пенсионерами (N13+N15). Сравнительно большой вклад в Фактор 1 вносят также мощность амбулаторно-поликлинических организаций (N17) и износ основных фондов (N20).

Перемен.	Фактор нагрузки (Варим. исх.) (Factors Выделение: Главные компоненты (Отмечены нагрузки >,700000) Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
N1	0,400807	0,320558	0,194101
N10	-0,016084	-0,901980	-0,031033
N11	-0,201311	-0,784808	0,308339
N13	0,826756	-0,186696	-0,147303
N15	0,828394	0,157620	0,223386
N16	-0,313960	0,721493	0,384137
N17	0,402320	0,017588	0,639575
N18	-0,392119	0,227249	0,666392
N19	0,107900	-0,143463	0,791062
N20	0,611192	0,096476	-0,071148
Общ дис.	2,370580	2,194341	1,836848
Доля общ	0,237058	0,219434	0,183685

Рисунок 2. Факторные нагрузки социально-экономических показателей, связанных с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне, в трёх факторах риска развития психических расстройств (обозначения см. в таблице 1)

Структура Фактора 2 несколько отличается от «грозди», связанной с бедностью населения. В нём бедность (N10) и безработица (N11) входят со знаком минус, а объём платных услуг в расчёте на 1000 населения (N16) со знаком плюс. Переменная N16 относилась к грозди, связанной с наркологической компонентой, и в Факторе 2 её действие противоположно действию компоненты бедности населения.

Третий фактор определяется обеспеченностью населения средним медицинским персоналом (N19). Сравнительно большой вклад в Фактор 3 вносят также мощность амбулаторно-поликлинических организаций (N17) и обеспеченность населения врачами (N18), меньший вклад, но также заметный, вносят безработица (N11) и объём платных услуг (N16). Все указанные показатели имеют положительную факторную нагрузку.

На следующем шаге мы провели группировку субъектов по набору социально-экономических параметров, связанных с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне. С помощью кластерного анализа с алгоритмом k-средних мы выделили три кластера, получив граничные с худшими и лучшими условиями жизни с точки зрения психологического состояния населения. На рисунке 3 представлена картограмма с результатами кластеризации. В кластер 1 вошли 26 субъектов со средней ситуацией, в кластер 2 вошли 43 субъекта с ситуацией, наиболее способствующей росту заболеваемости психическими расстройствами, а в кластер 3 – 16 более благополучных в рассматриваемом аспекте субъектов.

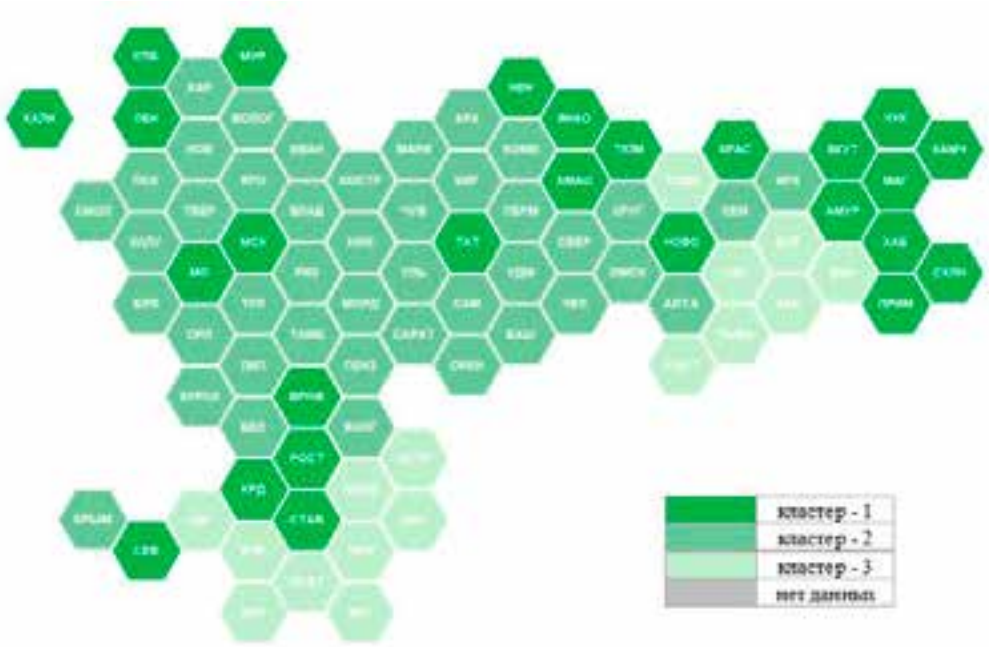


Рисунок 3. Группировка субъектов Российской Федерации по социально-экономическим показателям, связанным с заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне

Различие средних значений анализируемых параметров в каждом из трёх полученных кластеров представлено в таблице 2.

Таблица 2А. Средние значения заболеваемости населения психическими расстройствами и связанных с ней на популяционном уровне социально-экономических показателей в сравниваемых кластерах, значение t-критерия Стьюдента при сравнении кластера 3 (К3) с кластерами 1 (К1) и 2 (К2)

Параметры		**Средние значения**			**t-критерий**		
Код	**Название**	К1	К2	К3	К1-К2	К1-К3	К2-К3
N1	Заболеваемость ПР	397,4	430,4	282,4	0,7	**2,6***	**3,7**
N10	Доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума	10,1	12,6	19,4	**3,1**	**6,5**	**5,1**
N11	Уровень безработицы	1,0	0,9	3,4	0,2	**2,5**	**2,5**
N13	Коэффициент демограф. нагрузки	696,2	787,7	738,6	**7,4**	**2,5**	**3,6**
N15	Число пенсионеров на 1000 нас.	284,6	327,2	263,9	**7,2**	**2,7**	**9,7**
N16	Объём платных услуг на 1000 нас.	89,3	56,0	40,3	**6,0**	**8,2**	**4,8**
N17	Мощность амбулаторно-поликлинических организаций	296,6	312,8	254,1	1,0	**2,1**	**3,2**
N18	Обеспеченность врачами	55,5	45,8	46,8	**4,0**	**2,7**	-0,4
N19	Обеспеченность средним медицинским персоналом	109,6	105,5	105,9	0,8	0,6	0,1
N20	Степень износа основных фондов	46,8	57,6	47,6	**5,2**	0,3	**4,1**

* - статистически значимые различия средних

Для восьми из девяти параметров выявлены статистически значимые различия со значениями t-критерия более критических на 5% уровне значимости. Обеспеченность населения средним медицинским персоналом со значимой факторной нагрузкой в Факторе 3 при

непосредственном сравнении полученных кластеров не различается. Получено, что наихудшая ситуация по риску заболеваемости психическими расстройствами наблюдается во втором кластере (К2), а наилучшая – в третьем (К3). Во второй кластер входит наибольшее число регионов, а в третий наименьшее.

Если же сравнивать 15 субъектов с наибольшими и 15 субъектов с наименьшими показателями заболеваемости психическими расстройствами, то количество социально-экономических показателей, средние значения которых статистически значимо различны, будет гораздо меньше (табл. 2В).

Таблица 2В. Средние значения заболеваемости психическими расстройствами в 15 субъектах с наименьшими (С-min) и 15 субъектах с наибольшими (С-max) показателями, значение t-критерия Стьюдента (доверительный интервал 95%)

Параметры		**Средние значения**		**t-** крите-рий
Код	**Название**	С-min	С-max	
N1	Заболеваемость ПР	172,7	694,5	**10,8***
N10	Доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума	16,2	12,1	1,6
N11	Уровень безработицы	3,1	1,0	1,6
N13	Коэффициент демограф. нагрузки	733,0	737,4	0,1
N15	Число пенсионеров на 1000 нас.	281,2	320,0	**2,2**
N16	Объём платных услуг на 1000 нас.	53,6	62,1	0,9
N17	Мощность амбулаторно-поликлинических организаций	254,6	315,8	**2,1**
N18	Обеспеченность врачами	49,9	49,8	0,0
N19	Обеспеченность средним медицинским персоналом	110,2	106,0	0,4
N20	Степень износа основных фондов	49,7	54,4	1,1

* - статистически значимые различия средних

При разных уровнях выявленной заболеваемости психическими расстройствами достоверные различия показаны только для показателей «Число пенсионеров на 1000 населения» и «Мощность амбулаторно-поликлинических организаций на 1000 населения». Из 15 субъектов с наибольшим уровнем заболеваемости 10 субъектов входят во второй кластер К2 и пять субъектов входят в первый кластер К1.

Обсуждение

С заболеваемостью населения психическими расстройствами на популяционном уровне коррелируют только два социально-экономических показателя при том, что с показателями смертности, отражающими психическое здоровье населения, коррелируют ещё пять показателей. Это объясняется неполным учётом психических расстройств в показателе заболеваемости. Так, невзирая на увеличение количества заболевших различными заболеваниями в России с 2010 по

2016 годы на 5%, сумма принятых на диспансерный психиатрический учет свидетельствует о практически двукратном, снижении заболеваемости психическими расстройствами [Чистик О.Ф. 2018]. На недовыявление заболеваемости указывают также следующие факты: заболеваемость шизофренией в Российской Федерации снижается наравне с другими душевными расстройствами, несмотря на то, что её уровень обычно очень стабилен во всём мире; количество коек для психиатрических больных, уменьшающееся в последние 15 лет также, как и число психиатров, в общей структуре коек превысило койки больных другими заболеваниям, что свидетельствует о большей необходимости именно в психиатрической врачебной помощи [Панюкова А.С. Анастасия Сергеевна (2019)]. Так, например, по результатам проведенных стационарных судебно-психиатрических экспертиз, позволяющих проводить всестороннее комплексное клинико-лабораторное обследование подэкспертных, диагноз психического расстройства впервые был установлен в 15,0% случаев [Стрижев, В. А. (2019).]. Результаты социологического мониторинга распространения в Вологодской области признаков тревожных, депрессивных и невротических расстройств свидетельствуют о несоответствии статистических и социологических данных о масштабах распространения психических расстройств (признаки тревоги, депрессии и невроза зафиксированы у 40% жителей региона посредством социологических опросов, а согласно официальным статистическим данным психические расстройства встречаются у 0,6% населения области) [Шматова Ю.Е. 2019.]. Такая ситуация означает, что требуется некоторая корректировка выявляемого уровня заболеваемости психическими расстройствами, и выявленные показатели могут быть полезны в такой оценке.

Слабые корреляционные связи социально-экономических показателя с показателями психического здоровья означают, что, во-первых, ассоциированные с ними факторы входят в конгломерат большого числа близких по значимости факторов риска развития психических расстройств, имеющих разную природу, и частное влияние отдельных социально-экономических факторов не велико; во-вторых, как было сказано выше, уровень заболеваемости психическими расстройствами ниже реального; в-третьих, статистические показатели имеют погрешность измерения и не полностью отождествляются с соответствующим фактором риска.

Методами многомерного статистического анализа определено три фактора, влияние которых на психическое здоровье населения проявляется на популяционном уровне. Как и ожидалось, выявлено влияние фактора постарения населения. Фактор 1 в результатах факторного анализа способствует росту заболеваемости психическими расстройствами и определяется большой демографической нагрузкой пенсионерами. За счет полиморбидности у лиц пожилого возраста они сравнительно чаще обращаются за медицинской помощью, что проявляется в росте мощности амбулаторно-поликлинических организаций в расчёте на численность населения и, соответственно, в заметном вкладе этой переменной в Фактор 1. Сравнительно большой вклад в

Фактор 1 имеет также степень износа основных фондов. Хотя в последние годы ведётся большая работа по ремонту и реконструкции медицинских организаций, к 2021 году в большинстве субъектов Российской Федерации эта работа не завершена, основные фонды учреждений здравоохранения остаются изношенными. Только регионы с активным экономическим развитием смогли построить новые и реконструировать большинство старых медицинских организаций. Соответственно, Фактор 1 можно обозначить как фактор постарения населения в регионах со слабым экономическим развитием.

В Фактор 2 бедность и безработица входят со знаком минус, а объём платных услуг в расчёте на 1000 населения со знаком плюс, и этот фактор способствует росту заболеваемости психическими расстройствами. Обратно-пропорциональная зависимость уровня бедности и заболеваемости психическими расстройствами была показана и другими авторами [Швец Юрий Юрьевич (2023).], они объяснили такую связь снижением нелегального потребления психоактивных препаратов среди слоев населения с низким уровнем доходов. Мы также выявили отрицательную связь смертности от причин, связанных с наркотиками с уровнем бедности (ρ = -0,40) и безработных (ρ = -0,43) при наличии положительной связи с объёмом платных услуг на 1000 населения (ρ = 0,33). Однако, судя по уровню смертности, связанной с потреблением наркотиков, который на порядок меньше, чем смертность от причин, связанных с алкоголем, распространённость таких случаев не велика. При проявлении выявленной взаимосвязи на популяционном уровне такое объяснение для заболеваемости психическими расстройствами выглядит достаточным. Фактор, в котором влияние объёма платных услуг противоположно влиянию компоненты бедности населения и уровню безработицы, соответствует экономическому благополучию региона. В литературе не упоминается наличие такого фактора. Его положительное влияние на рост заболеваемости позволяет предположительно обозначить Фактор 2 или как фактор ускорения темпа жизни, или как фактор бурного экономического развития региона с большим числом трудовых мигрантов. Тогда возможными объясненем его влияния будут следующие факты. Во-первых, в такой ситуации часть населения не успевает адаптироваться к быстро меняющимся условиям, что служит дополнительным стрессом. Это подтверждается мнением экономистов, что экономическая система в рыночной экономике нацелена на развитие и концентрацию капитала, отодвигая социальное и экологическое развитие на последние места, следствием чего является развитие условий для возникновения социальных и экономических кризисов [Беломестнов, В. Г. (2021). Во-вторых, лучшая обеспеченность врачами способствует лучшей выявляемости психических заболеваний [Зинина А. И. 2017.]. В-третьих, в ситуации прироста трудовой миграции (которая достаточно часто сопровождается нелегальной миграцией) оборот наркотиков, вероятно, более высок. Отмечается актуальность

для России проблемы незаконной миграции, которая влечет рост этнической организованной преступности и связанного с ней незаконного оборота наркотиков [Гринько, С. Д. (2021).].

В Фактор 3, определяемый обеспеченностью населения средним медицинским персоналом, положительный вклад вносят обеспеченность населения врачами и мощность амбулаторно-поликлинических организаций, а также безработица и объём платных услуг. Такое влияние на заболеваемость психическими расстройствами соответствует действию известного фактора урбанизации. В этом факторе б***о***льшие факторные нагрузки имеют показатели, коррелирующие со смертностью от самоубийств.

При районировании территории на основе учёта отобранных социально-экономических показателей, связанных на популяционном уровне с заболеваемостью населения психическими расстройствами, более высокая заболеваемость оказалась во втором кластере (К2), менее высокая – в третьем кластере (К3).

Во втором кластере наибольшее среднее значение численности пенсионеров в расчёте на 1000 населения (что, очевидно, определило меньший уровень безработицы) и наибольший износ основных фондов, т.е. кластер К2 сформирован преимущественным влиянием Фактора 1. Во втором кластере меньшая обеспеченность населения врачами, и в него входит половина регионов страны.

Первый кластер характеризуется наименьшей долей лиц с доходами ниже прожиточного минимума и более молодым населением. Там лучше обеспеченность медицинским персоналом, меньше изношенность основных фондов и наибольший объём платных услуг, то есть он сформирован преимущественным влиянием Фактора 2. В него входят Москва и Московская область, Санкт – Петербург и Ленинградская область, Калининградская область, Краснодарский край, Ненецкий, Ямало-Ненецкий и Ханты-Мансийский автономные округи и другие регионы, активно развивающиеся в настоящий период.

В третий кластер входит 12 национальных республик, Еврейская автономная область, Забайкальский край, Томская и Астраханская области. В этих регионах наиболее бедное население и наибольший уровень безработицы, наименьшая мощность амбулаторно-поликлинических организаций. Также здесь наименьшее число пенсионеров, т.е. влияние фактора урбанизации и фактора постарения населения здесь наименьшее, что и сказывается на сравнительно низкой заболеваемости психическими расстройствами.

При районировании территории на основе учёта уровня заболеваемости психическими расстройствами крайние кластеры различаются по значениям социально-экономических показателей, отражающих влияние Фактора 1 – постарения населения в регионах со слабым экономическим развитием. Это означает, что в текущий период влияние этого фактора на психическое здоровье россиян наибольшее. Достаточно заметно также влияние Фактора 2, поскольку в 15 субъектов с наибольшим уровнем заболеваемости входят не только 10 субъектов из

второго кластера К2 с преимущественным влиянием Фактора 1, но и пять субъектов из первого кластера К1 с преимущественным влиянием Фактора 2.

Такое согласование результатов районирования с выделенными факторами свидетельствует о целесообразности использования отобранных социально-экономических показателей для выявления субъектов Российской Федерации, нуждающихся в дополнительных мерах по снижению риска развития психических расстройств у населения.

Если действие фактора урбанизации можно считать фоновым и мало управляемым, то экономическое развитие регионов смягчит влияние фактора постарения населения Российской Федерации. Противодействие влиянию Фактора 2 возможно путём социальной поддержки бедных слоёв населения, усиления работы с молодёжью в плане организации досуга и приобщения здоровому образу жизни.

Заключение

Таким образом, заболеваемость психическими расстройствами в достаточной мере отражает социально-экономические условия жизни населения. Только два социально-экономических показателя коррелируют с показателем заболеваемости населения психическими расстройствами на популяционном уровне: численность пенсионеров и мощность амбулаторно-поликлинических организаций в расчёте на население. Ещё для восьми показателей их связь с психическим здоровьем населения на популяционном уровне подтверждена методами многомерного статистического анализа (доля лиц, с доходами ниже прожиточного минимума, уровень безработицы, коэффициент демографической нагрузки, объём платных услуг в пересчёте на население, обеспеченность врачами и средним медицинским персоналом, степень износа основных фондов). Указанные показатели в совокупности формируют три фактора, способствующие росту заболеваемости психическими расстройствами: это факторы, соответствующие урбанизации, постарению населения в условии слабого экономического развития региона, а также бурному экономическому развитию региона. В текущий период наибольшее влияние на заболеваемость российского населения оказывает постарение населения в условии слабого экономического развития региона.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование не имело дополнительной финансовой поддержки.

Участие авторов. А.Р. Приачева — концепция и дизайн исследования, написание текста; Т.П. Сабгайда — концепция и дизайн исследования, редактирование; Е.А. Сухоруков — статистическая обработка, сбор материала; Н.Н. Музыкантова — обработка материала, редактирование. Все авторы внесли существенный вклад в проведение работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демчева, Н. К., Грищенко, Я. А. (2011). Сравнительный анализ показателей заболеваемости психическими расстройствами, демографической ситуации и обеспеченности психиатрической помощью в двух сельских районах Краснодарского края. Российский психиатрический журнал, (3), 11-19. N.K. Demcheva, Ya.A. Grishchenko A comparative analysis of mental morbidity indicators, demographic situation and psychiatric care availability in two rural areas of the Krasnodar Region
2. Мартынихин И. Снижение заболеваемости психическими расстройствами в России: истинная тенденция или артефакт? 2 марта 2016, 10:53; URL: https://psychiatr.ru/news/525 (дата обращения 12.02.2024).
3. Костюк Г.П. Актуальные проблемы практической психиатрии: решит ли их новый Порядок оказания медицинской помощи при психических расстройствах и расстройствах поведения? Национальное здравоохранение. 2023;4(1):48-54. https://doi.org/10.47093/2713-069X.2023.4.1.48-54 Kostyuk G.P. Actual problems of practical psychiatry: will the new Order of medical care for mental disorders and behavioral disorders solve them? National Health Care (Russia). 2023;4(1):48-54. (In Russ.) https://doi.org/10.47093/2713-069X.2023.4.1.48-54
4. Демчева Н. К. Общая заболеваемость психическими расстройствами в РФ и федеральных округах в 2017-2019 гг / Н. К. Демчева, А. В. Яздовская // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2021. – № 1. – С. 45-55. – DOI 10.33920/med-01-2101-04
5. Решетников М.М. Психическое здоровье населения - современные тенденции и старые проблемы // Нац. психолог. журн. 2015. № 1 (17). С. 9-15.
6. Петри, А. Н. (2017). Особенности эмоционального выгорания медицинских работников. Акмеология, (1 (61)), 128-133.
7. Матюшкина Е.Я., Рой А.П., Рахманина А.А., Холмогорова А.Б. Профессиональный стресс и профессиональное выгорание у медицинских работников [Электронный ресурс] // Современная зарубежная психология. 2020. Том 9. № 1. С. 39–49. DOI: 10.17759/jmfp.2020090104
8. Малютина, Т. В., Цыганкова, О. Ю., & Лонская, Л. В. (2021). Профессиональное выгорание и его факторы у медицинских работников в условиях пандемии. Проблемы современного педагогического образования, (72-1), 382-384.
9. Гайдаров Г. М., Апханова Н. С., Душина Е. В., Ворсина О. П., Алехин И. Н. Влияние медико-организационных факторов на заболеваемость психическими расстройствами и расстройствами поведения. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории

медицины. 2021;29(4):928—932. DOI: http://dx.doi.org/ 10.32687/0869-866X-2021-29-4-928-932 Gaidarov G. M., Apkhanova N. S., Dushina E. V., Vorsina O. P., Alekhin I. N. The effect of medical organizational factors on morbidity of mental and behavior disorders. Problemi socialnoi gigieni, zdravookhranenia i istorii meditsini. 2021;29(4):928—932 (In Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-4-928-932

10. Никифоров С. А., Алленов А. М., Арестова А. А., Львова Д. П., Алехин С. Г. Психическое здоровье и хронические неинфекционные заболевания. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2020;28(6):1252—1258. DOI: http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2020-28-6-1252-1258 Nikiforov S. A., Allenov A. M., Arestova A. A., Lvova D. P., Alehin S. G. The mental health and chronic infectious diseases. Problemi socialnoi gigieni, zdravookhranenia i istorii meditsini. 2020;28(6):1252—1258 (In Russ.). DOI: http:// dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2020-28-6-1252-1258
11. Тювина Н.А., Высокова В.О., Максимова Т.Н., Прохорова С.В. Причины и предикторы психических нарушений в период пандемии COVID-19. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2021;13(6):85–90. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-6-85-90
12. Егорова М.С., Черткова Ю.Д. Полиморфизм гена моноаминооксидазы (MAOA) и вариативность психологических черт [Электронный ресурс] // Психологические исследования: электрон. науч. журн.2011. N 6(20). С. 14. URL: http://psystudy.ru (дата обращения: 2.02.2024).. DOI: https://doi.org/10.54359/ps.v4i20.807
13. Артемьев И.А., Владимирова С.В. Взаимосвязь бедности и наркотизма. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2020; 1 (106): 31–42.
14. Kposowa A.J. Unemployment and suicide: a cohort analysis of social factors predicting suicide in the US National Longitudinal Mortarlity Stady. Psychological Medicine, 2001, vol. 31 (1), pp. 127-138.
15. Артемьев И.А. Преемственность как научно-концептуальный футурологический подход к эпистемологии социальной психиатрии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2021; 2 (111): 73-81.
16. Коблова А.А., Кром И.Л., Новичкова И.Ю. Социальные риски психического здоровья: медико-социологическая интерпретация // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 6. URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=7635 (дата обращения 23.11.2018).
17. Толстая, Е. В., Козелько Н. А. Визуальная окружающая среда как важный экологический фактор. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2019. – № 2. – С. 13-20.

18. Евстифеева С.Е., Шальнова С.А., Куценко В.А., Баланова Ю.А., Имаева А.Э., Капустина А.В. и др.. Тревога и депрессия: десятилетняя динамика распространенности и ее ассоциации с демографическими и социально-экономическими показателями по данным исследования ЭССЕ-РФ. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(8S):3796. doi:10.15829/1728-8800-2023-3796. EDN ZRQCJG Evstifeeva S.E., Shalnova S.A., Kutsenko V.A., Balanova Yu. A., Imaeva A.E., Kapustina A.V. et al. Anxiety and depression: ten-year changes of prevalence and its association with demographic and socio-economic characteristics according to the ESSE-RF study. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2023;22(8S):3796. doi:10.15829/1728-8800-2023-3796. EDN ZRQCJG
19. Психологические заболевания пожилых России: Всемирная организация здравоохранения. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-of-older-adults (дата обращения 06.02.2024 г.).
20. Смулевич А.Б. Психосоматические расстройства в клинической практике. Москва: МЕДпресс-информ, 2019. – 776 с.
21. Заболеваемость взрослого населения России в 2021 году с диагнозом, установленным впервые в жизни: статистические материалы. Часть III / Е.Г.Котова, О.С.Кобякова, Г.А.Александрова, Н.А.Голубев, Ю.И.Оськов, А.В.Поликарпов, Е.А.Шелепова и др.-М.: ЦНИИОИЗ Минздрава России, 2022.- 163 с.- ISBN 978-5-94116- 073-0. DOI: 10.21045/978-5-94116-073-0-2022
22. Чистик О.Ф. Статистический анализ динамики заболеваемости населения Российской Федерации.// Проблемы развития предприятий: теория и практика.- 2018.- № 2.- С. 58-62.
23. Панюкова А.С. Анастасия Сергеевна (2019). Статистика заболеваемости психическими расстройствами в Российской Федерации. Скиф. Вопросы студенческой науки, 2019;11 (39): 589-595
24. Стрижев, В. А. (2019). О выявлении первичной заболеваемости при проведении стационарной судебно-психиатрической экспертизы среди населения города Краснодара. Медицинская наука и образование Урала, 20(2), 90-93. Strizhev V.A. On the determination of primary morbidity while carrying out a stationary forensic-psychiatric examination among the population of Krasnodar city
25. Шматова Ю.Е. Динамика статистических и социологических показателей состояния психического здоровья населения России // Проблемы развития территории. 2019. № 3 (101). С. 76-96. DOI: 10.15838/ptd.2019.3.101.5. Shmatova Yu.E. Dynamics of statistical and sociological indicators of mental health of the Russian Population. Problems of Territory's Development, 2019, no. 3 (101), pp. 76-96. DOI: 10.15838/ptd.2019.3.101.5

26. Швец Юрий Юрьевич (2023). Проведение факторного и регрессионного анализа для выявления взаимосвязи между показателями заболеваемости населения и экономического развития территории. Азимут научных исследований: экономика и управление, 12 (1 (42)), 147-150. DOI: 10.57145/27128482_2023_12_01_27
27. Беломестнов, В. Г. (2021). Модель социально-экономического развития России и ее регионов в условиях современных вызовов. Россия: тенденции и перспективы развития, (16-1), 922-925.
28. Зинина А. И. Комплексное развитие психиатрической помощи населению Новосибирской области в условиях модернизации системы здравоохранения //Региональный опыт модернизации психиатрических служб. – 2017. – С. 85-96.
29. Гринько, С. Д. (2021). Незаконная миграция, как посягательство на суверенитет и безопасность государства. *Актуальные проблемы государства и права*, *5*(18), 341-352. DOI; 10.20310/2587-9340-2021-5-18-341-352 S.D. Grinko Illegal migration as an encroachment on the sovereignty and security of the state.

Сведения об авторах

Примачева Альфия Рафиковна, [***Alfiya R. Primachova***, PhD,]; **адрес:** 127254, Москва, ул. Добролюбова, 11 [**address:** 11 Dobrolubova street, 127254, Moscow, Russia]; телефон: +7 (924) 201-11-15; **e-mail:** medserviskhv@yandex.ru, **SPIN-код:** …, **ORCID**: https://orcid.org/0009-0009-4657-6455

Сабгайда Тамара Павловна, д.м.н., профессор [***Tamara V. Sabgayda***, MD, PhD, professor]; **e-mail:** tsabgaida@mail.ru, **SPIN-код:** 7925-6902, **ORCID**: https://orcid.org/0000-0002-5670-6315

Сухоруков Евгений Анатольевич, [***Evgenii A. Sukhorukov***]; **e-mail:** 8896626@gmail.com, **SPIN-код:** …, **ORCID**: https://orcid.org/0000-0002-6337-0629

Музыкантова Наталья Николаевна, к.п.н., [***Natalia N. Muzykantova***, PhD,]; **e-mail:** muzykantovann@mednet.ru, **SPIN-код:** 8791-3998, **ORCID**: https://orcid.org/ 0000-0003-2071-8688

ЗНАЧИМЫЕ БИОМАРКЕРЫ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.А. Раскуражев, к.м.н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии»

Сосудистые заболевания головного мозга – это не только чрезвычайно актуальная и значимая проблема современного здравоохранения, но и вызов последним достижениям молекулярно-генетических и биоинформационных технологиям. МикроРНК, ранее находившиеся на периферии нейронаук, вышли в авангард в свете результатов исследований начала тысячелетия, поскольку оказалось, что они являются важнейшим элементом эпигенетической регуляции экспрессии генов.

Нами была предпринята попытка в рамках пилотных, поисковых исследований идентифицировать среди набора ассоциированных с различными звеньями цереброваскулярной патологии микроРНК потенциально значимые – в плане оценки: (1) риска развития, (2) прогрессирования нарушений мозгового кровообращения, и (3) в качестве трансляции в фундаментальную нейронауку для изучения и разработки таргетной терапии. В качестве модельного состояния было выбрано одно из самых распространенных поражений сосудистой стенки, приводящих к цереброваскулярным заболеваниям, - атеросклероз.

В общей сложности на когорте из >180 пациентов впервые в условиях ФГБНУ НЦН была апробирована методика эсктракции и количественного определения микроРНК. В качестве основных результатов проводимой в несколько этапов работы следует выделить:

1) У пациентов с каротидным атеросклерозом значимо снижена экспрессия miR-126-5p/3p, miR-29a-3p, miR-21-3p, что позволяет считать их условно атеропротективными биомаркерами;
2) Прогрессирование каротидного атеросклероза ассоциировано с гиперэкспрессией miR-33a-3p;
3) Одним из возможных медиаторов проатерогенного эффекта miR-33a может являться прямая взаимосвязь ее экспрессии с уровнем липопротеинов низкой плотности – ключевым звеном атерогенеза;
4) Адекватная коррекция нарушений липидного обмена сопровождается снижением экспрессии miR-33a, что говорит о потенциале динамического определения данного биомаркера с целью оценки эффекта профилактической терапии цереброваскулярных заболеваний;

5) Уровень экспрессии miR-126-5p является высокоспецифичным и чувствительным биомаркером значимого каротидного атеросклероза.

Таким образом, микроРНК можно с уверенностью считать перспективным направлением исследований в области биомаркеров сосудистой патологии головного мозга.

ОСОБЕННОСТИ ФИБРОМИАЛГИИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕПСИХОТИЧЕСКИМИ ПСИХИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Д.А. Тумуров[1,2], Ю.Е. Брызгалова[1], Д.В. Журавлев[1], Г.В. Кустов[1]

[1] ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьева ДЗМ», Москва

[2] ГБУЗ «Городская клиническая больница имени В.М. Буянова ДЗМ», Москва.

Введение

Актуальность исследования обусловлена высокой частотой сочетания хронических болевых синдромов с непсихотическими психическими расстройствами (НПР). В ходе масштабного анализа публикаций, было установлено, что у пациентов психиатрических клиник, госпитализированных по поводу депрессии, распространенность жалоб на боли и наличие различных болевых синдромов была от 15% до 100% (в среднем, 65%) [1]. Депрессия, в свою очередь, может не только провоцировать боль, но и усугублять ее течение [2]. Вместе с депрессией, на процесс хронизации боли негативно воздействуют также тревога, стресс и такие социальные факторы, как неудовлетворенность работой, конфликты на рабочем месте [3]. Общепризнанно, что полноценная терапевтическая тактика терапии пациентов с НПР должна учитывать наличие хронической боли и предусматривать адекватные средства для её облегчения. Фибромиалгия (ФМ) – это заболевание, характеризующееся сочетанием хронического распространенного болевого синдрома и широкого спектра ассоциированных симптомов, таких как утомляемость, нарушения сна, когнитивные нарушения, утренняя скованность, эмоциональные расстройства и др. [4]. Данные о распространенности ФМ в общей популяции варьируют в пределах 2-5% в зависимости от использованных диагностических критериев [5]. Диагностика ФМ базируется на клинических данных и не требует сложных и дорогостоящих обследований [6]. В то же время, несмотря на широкое распространение и кажущуюся лёгкость обнаружения ФМ, её диагностика вызывает затруднения в общей медицинской практике, по данным Walitt B. и коллег диагноз не поставлен у 73% пациентов, жалобы которых соответствовали критериям ФМ [7]. Клинические проявления коморбидных психических расстройств при ФМ трудно поддаются изучению из-за того, что в перечень диагностических критериев ФМ входят симптомы, которые характерны для психических расстройстве (тревога, апатия, нарушение сна и когнитивные нарушения) [8]. В связи с этим, изучение распространенности и особенностей ФМ у пациентов с НПР является актуальной научно-практической задачей.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе отделений ГБУЗ НПЦ им. Соловьева ДЗМ. В исследование методом последовательного набора включались пациенты стационара с наличием жалоб на диффузную боль теле в возрасте от 18 лет и старше с установленным диагнозом НПР. Пациенты с тяжелыми соматическими и неврологическими заболеваниями, расстройствами психотического уровня, расстройствами, связанными с употреблением психоактивных веществ, и когнитивным дефицитом были исключены из исследования. Для получения информации о наличие у пациента с НПР жалоб на боль в теле использовался Скрининговый опросник для выявления фибромиалгии (Fibromyalgia Rapid Screening Tool (FiRST)). Диагноз ФМ подтверждали с использованием диагностических критериев ФМ Американского колледжа ревматологии 2016 года. Данные о социально-демографических и клинических показателях собиралась при помощи регистрационной карты, разработанной для данного исследования. Для оценки уровней депрессии и тревоги использовались шкала депрессии Бека (BDI) и шкалы личностной и реактивной тревожности Спилбергера-Ханина (STAI-S и STAI-T, соответственно). Для статистической обработки данных использован пакет прикладных статистических программ. Точный критерий Фишера использовался для сравнения качественных переменных. Для сравнения количественных данных применялся критерий Манна-Уитни. Статистически значимым считался показатель $p < 0,05$.

Результаты

Нами было обследовано 1168 пациентов (915 (78.3%) – женщины), госпитализированных по поводу НПР. Средний возраст составил 56.4±16.6 лет. После углубленного клинического осмотра пациентов, включенных в исследование, было установлено, что 9.0% (95% ДИ 7.5-10.8%) пациентов с НПР соответствуют диагностическим критериям ФМ ACR 2016, средний возраст пациентов с ФМ составил 57.5±14.3 лет. Тремя наиболее распространенными диагнозами были органического расстройство (15.2%), униполярная депрессия (41.9%), тревожные расстройства (39.3%). В группе пациентов с ФМ значимо больше женщин 93/105 (88.6%) против 822/1065 (77.3%) ($p=0.01$). Мы не обнаружили значимых различий в демографических характеристиках между пациентами с ФМ и без нее (см. таблицу 1). По сравнению с контрольной группой у пациентов с ФМ была значительно более высокая распространенность униполярной депрессии 44 (41.9%) против 302 (28.4%) ($p=0.005$). Итоговые значения по шкалам BDI, STAI-T, STAI-S были значимо выше у пациентов с ФМ ($p<0,01$).

Таблица 1. Основные социально-демографические показатели

Показатели	**M±SD* или n (%)**			**p** (ФМ (+)/ФМ (-))
	Всего	ФМ (+)	ФМ (-)	
	n=1168	n=105	n=1063	
Пол**				
Женщины	915 (78.3%)	93 (88.6 %)	822 (77.3%)	p=0.006
Мужчины	253 (21.7%)	12 (11.4%)	241 (22.7%)	
Возраст (лет) * **	56.4±17.6	57.5±14.3	56.3±17.9	p=0.864
Диагноз НПР (МКБ-10) **				
Органическое расстройство	192 (18.1%)	16 (15.2%)	192 (18.1%)	p=0.592
Шизотипическое расстройство	10 (0.9%)	0 (0%)	10 (0.9%)	p=1.000
Биполярное расстройство	39 (3.5%)	2 (1.9%)	37 (3.5%)	p=0.571
Униполярная депрессия	346 (29.6%)	44 (41.9%)	302 (28.4%)	p=0.005
Тревожные расстройства	505 (43.2%)	36 (34.3%)	469 (44.1%)	p=0.063
Обсессивно-компульсивные р.	12 (1.0%)	1 (1.0%)	11 (1.0%)	p=1.000
Нарушение пищевого поведения	3 (0.3%)	0 (0%)	3 (0.3%)	p=1.000
Личностные расстройства	45 (3.9%)	6 (5.7%)	39 (3.7%)	p=0.286
BDI***	19.5±10.8	23.0+10.5	19.1+10.8	p<0.001
STAI-S***	53.5+11.7	56.1+10.2	53.3+11.8	p=0.008
STAI-T***	54.2+10.6	57.4+10.2	54.0+10.6	p=0.002
*=M±SD = среднее значение±стандартное отклонение; **=Точный критерий Фишера, ***=критерий Манна-Уитни				

Заключение

В нашей работе было показано, что распространенность ФМ среди пациентов с НПР выше, чем в общей популяции и составляет 9.0%. ФМ у пациентов с НПР ассоциирована с женским полом и высокими уровнями депрессии и тревоги. По нашему мнению, данное наблюдение подчеркивает роль психогенных факторов в развитии ФМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gerrits M.M.J.G. et al. Impact of pain on the course of depressive and anxiety disorders // Pain. International Association for the Study of Pain, 2012. Vol. 153, № 2. P. 429–436.

2. Pereira-Miranda E. et al. Overweight and obesity associated with higher depression prevalence in adults: a systematic review and meta-analysis // J. Am. Coll. Nutr. Taylor & Francis, 2017. Vol. 36, № 3. P. 223–233.

3. Pinheiro M.B. et al. Symptoms of depression as a prognostic factor for low back pain: a systematic review // Spine J. Elsevier, 2016. Vol. 16, № 1. P. 105–116.

4. Давыдов О.С., Глебов М.В. Фибромиалгия // Российский журнал боли. Общество с ограниченной ответственностью Издательство Медиа Сфера, 2020. Vol. 18, № 3. P. 66–74.

5. Kleykamp B.A. et al. The Prevalence of Psychiatric and Chronic Pain Comorbidities in Fibromyalgia: an ACTTION systematic review. // Semin. Arthritis Rheum. United States, 2021. Vol. 51, № 1. P. 166–174.

6. Arnold L.M. et al. AAPT Diagnostic Criteria for Fibromyalgia // J. Pain. Elsevier Inc., 2019. Vol. 20, № 6. P. 611–628.

7. Walitt B. et al. The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the 2012 National Health Interview Survey // PLoS One. Public Library of Science San Francisco, CA USA, 2015. Vol. 10, № 9. P. e0138024.

8. Zinchuk M.S. et al. Modern ideas about the relationship between fibromyalgia and mental disorders // Zhurnal Nevrol. i Psikhiatrii Im. SS Korsakova. 2023. Vol. 123, № 10. P. 7–16.

ВЫСОКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЕМОКИНОВ MIP-1A (CCL3) И ЭОТАКСИНА (CCL11) АССОЦИИРОВАНЫ С БЛАГОПРИЯТНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ПОЛУШАРНОГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

М.С. Фидлер[1], М.Ю. Мартынов[1,2], И.А. Щукин[1,2], И.А. Кольцов[1,2]

[1]ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, г. Москва

[2]ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА, г. Москва

Геморрагический инсульт является весомым общемировым фактором смертности и инвалидности, что делает его значимой проблемой мирового здравоохранения. В 2019 г. было зарегистрировано 4,59 млн. геморрагических инсультов по всему миру, что составило 37,6% от всех инсультов [1]. Существуют два подтипа геморрагического инсульта: внутримозговое и субарахноидальное кровоизлияния. Доля внутримозговых кровоизлияний составляет до одной пятой от всех инсультов. Несмотря на небольшую долю в структуре острых нарушений мозгового кровообращения, на внутримозговые кровоизлияния приходится наибольшая доля лет жизни с поправкой на инвалидность среди всех неврологических заболеваний [2] и более половины всей инвалидности после инсульта. Причиной примерно 65% всех внутримозговых кровоизлияний является артериальная гипертензия [3]. В настоящее время во всем мире, в том числе в актуальных отечественных клинических рекомендациях по ведению пациентов с геморрагическим инсультов, не представлено однозначно доказанного эффективного метода лечения, терапия в основном ограничиваются симптоматическими методами. При этом за последние десятилетия уровень смертности от геморрагического инсульта кардинально не изменился и остается на высоком уровне.

В патогенезе геморрагического инсульта важнейшую роль играет вторичное церебральное повреждение на фоне развивающегося нейровоспаления. Экстравазация крови в паренхиму головного мозга активирует микроглию и астроциты [4], что в свою очередь способствует высвобождению цитокинов, хемокинов, различных молекул адгезии и других потенциально нейротоксичных соединений. Хемокины представляют собой структурно и функционально родственные белки, участвующие в привлечении воспалительных клеток, в первую очередь лейкоцитов. Активированная микроглия, астроциты, а также нейроны экспрессируют хемокины в различных отделах центральной нервной системы [5]. Учитывая, что лейкоцитарная инфильтрация ускоряет повреждение головного мозга после внутримозгового кровоизлияния [6], исследования роли хемокинов с их хемоаттрактантным действием в патогенезе внутримозговых кровоизлияний остаются крайне актуальными.

При геморрагическом инсульте наиболее изучены свойства хемокинов семейства CC, в основном связанных с инфильтрацией Т-лимфоцитов, эозинофилов, базофилов, моноцитов [7].

Было показано, что моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1/CCL2) является маркером тяжести нетравматического внутримозгового кровоизлияния и может использоваться для прогнозирования исхода заболевания [8]. Выключение гена хемокина CCL12 (MCP-5) уменьшает повреждение головного мозга, влияет на функциональный исход внутримозгового кровоизлияния [9]. При моделировании нетравматического внутримозгового кровоизлияния у мышей было показано, что интраназальное введение рекомбинантного CCL17 уменьшает нейровоспаление и апоптоз нейронов, приводя к улучшению неврологического дефицита [10]. Роль ряда хемокинов, таких как макрофагальный воспалительный белок-1α (MIP-1α/CCL3) и эотаксин (CCL11) при нетравматических внутримозговых кровоизлияниях изучена недостаточно.

Целью данного исследования было оценить в клинических условиях комплексное взаимодействие между MIP-1α (CCL3) и эотаксином (CCL11) при полушарном геморрагическом инсульте.

Материал и методы

Был проведен комплексный анализ 24 пациентов с острым полушарным геморрагическим инсультом, развившимся на фоне артериальной гипертензии. Исследование проводилось на кафедре неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова на клинической базе ГБУЗ ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова Департамента здравоохранения г. Москвы в период с 2015 по 2017 гг. Всем пациентам при поступлении и в динамике на 7 и 14 сутки проводилась компьютерная томография головного мозга (КТ ГМ) на 160-срезовом компьютерном томографе Aquilion Prime (Toshiba, Япония). Тяжесть неврологического дефицита оценивалась при поступлении и ежедневно в динамике по шкале инсульта Национальных институтов здоровья (NIHSS). Функциональный исход заболевания оценивался по модифицированной шкале Рэнкина. Всем пациентам при поступлении после проведения КТ ГМ, а также на 3, 7 и 14 сутки проводился забор крови для определения концентрации хемокинов. Концентрации MIP-1α (CCL3) и эотаксина (CCL11) в сыворотке крови измеряли с помощью мультиплексного иммуноанализа. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом.

Результаты

Средний возраст пациентов составил 59,1±7,6 лет. 19 пациентов были мужчинами (79,2%), 5 – женщинами (20,8%). Балл по шкале NIHSS при поступлении составил 10 [7 – 16]. Балл по шкале комы Глазго при поступлении составил 15 [14 – 15]. Объем гематомы при поступлении составил 15,7 [9,6 – 27,3] мл. У 9 пациентов (37,5%) гематома располагалась в глубинных отделах, у 15 пациентов (62,5%) поверхностно. Все пациенты имели в анамнезе гипертоническую болезнь.

Были отмечены сложные разнонаправленные связи между различными уровнями системной концентрации указанных хемокинов. Данные о концентрации хемокинов в динамике в основной группе указаны в таблице 1.

Таблица 1. Концентрации MIP-1α (CCL3) и эотаксина (CCL11) в динамике

Время от начала заболевания	Концентрация MIP-1α (CCL3), пг/мл	Концентрация эотаксина (CCL11), пг/мл
При поступлении в стационар (1 сутки)	11,71±10,59	166,57±56,14
3 сутки	13,31±11,11	222,61±69,95
7 сутки	11,01±9,00	197,23±68,89
14 сутки	12,15±8,91	213,35±98,22

Была выявлена статистически значимая корреляция системной концентрации MIP-1α (CCL3) и эотаксина (CCL11) (r=0,549, p=0,010) в первые сутки заболевания.

Была проведена оценка динамики системной концентрации данных хемокинов при статификации по исходной тяжести неврологического дефицита (таблицы 2 и 3). К группе средней степени тяжести были отнесены пациенты с баллом по шкале NIHSS от 0 до 8, к группе тяжелой степени – с баллом по шкале NIHSS от 9 до 15, к группе крайне тяжелой степени – с баллом по шкале NIHSS 16 и выше.

Таблица 2. Динамика концентрации MIP-1α (CCL3) в зависимости от исходной тяжести неврологического дефицита

Тяжесть неврологического дефицита	Средняя	Тяжелая	Крайне тяжелая	p (однофакторный дисперсионный анализ)
1	14,98±9,35	2,90±1,97	11,90±10,80	0,009
3	13,90±10,05	5,01±2,78	14,85±14,45	0,060
7	17,56±12,63	1,80±1,44	8,65±6,62	0,011
14	16,32±6,36	8,07±5,04	5,08±4,43	0,160

Таблица 3. Динамика концентрации эотаксина (CCL11) в зависимости от исходной тяжести неврологического дефицита

Тяжесть неврологического дефицита	Средняя	Тяжелая	Крайне тяжелая	p (однофакторный дисперсионный анализ)
1	229,47±144,29	158,80±13,95	173,72±57,81	0,374
3	224,06±73,12	168,60±54,58	205,99±63,38	0,332
7	244,60±50,32	154,43±11,64	182,53±61,35	0,005
14	303,17±118,79	197,23±46,71	156,42±52,00	0,233

Во всех точках наблюдения было отмечено, что при наиболее благоприятном течении инсульта в подгруппе средней степени тяжести отмечались наибольшие значения системных концентраций MIP-1α (CCL3) и эотаксина (CCL11), которые либо были статистически значимыми, либо отмечалась клинически значимая тенденция к соответствующим различиям между подгруппами.

С учетом литературных данных и результатов настоящего исследования при помощи статистики J Юдена в разных временных точках наблюдения был сформулирован оптимальный профиль цитокинового статуса пациента: концентрация MIP-1α (CCL3) более 15 пг/мл и концентрация эотаксина (CCL11) более 200 пг/мл.

Выводы

Концентрации хемокинов в крови потенциально могут быть предикторами неблагоприятного исхода геморрагического инсульта. В настоящем исследование впервые показано прогностическое значение динамического исследования хемокинов MIP-1α (CCL3) и эотаксина (CCL11) в сыворотке у пациентов в остром периоде полушарного геморрагического инсульта. Ранее было показано, что низкие концентрации эотаксина (CCL11) у пациентов с ишемическим инсультом являются предиктором более тяжелого неврологического дефицита при выписке из стационара [11]. В нашем исследовании было выявлено, что для наиболее благоприятного течения полушарного геморрагического инсульта характерно сочетание высокой концентрации MIP-1α (CCL3) и высокой концентрации эотаксина (CCL11).

ЛИТЕРАТУРА

1. GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 // The Lancet Neurology, 2021, T. 20, Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019, № 10, C. 795-820.

2. Chin J.H., Vora N. The global burden of neurologic diseases // Neurology, 2014, T. 83, № 4, C. 349-351.

3. Xi G., Keep R.F., Hoff J.T. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage // The Lancet. Neurology, 2006, T. 5, № 1, C. 53-63.

4. Wang J. Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage // Progress in Neurobiology, 2010, T. 92, № 4, C. 463-477.

5. Peters E.E., Feuerstein G.Z. Chemokines and ischemic stroke // Inflammation and Stroke: Progress in Inflammation Research/ ed. G.Z. Feuerstein. – Basel: Birkhäuser, 2001. – P. 155-162.

6. Shi S.X., Xiu Y., Li Y., Yuan M., Shi K., Liu Q., Wang X., Jin W.-N. CD4+ T cells aggravate hemorrhagic brain injury // Science Advances, T. 9, № 23, C. eabq0712.

7. Bajetto A., Bonavia R., Barbero S., Florio T., Schettini G. Chemokines and their receptors in the central nervous system // Frontiers in Neuroendocrinology, 2001, T. 22, № 3, C. 147-184.

8. Wang J., Bian L., Du Y., Wang D., Jiang R., Lu J., Zhao X. The roles of chemokines following intracerebral hemorrhage in animal models and humans // Frontiers in Molecular Neuroscience, 2023, T. 15, C. 1091498.

9. Huang J., Yang G., Xiong X., Wang M., Yuan J., Zhang Q., Gong C., Qiu Z., Meng Z., Xu R., Chen Q., Chen R., Xie L., Xie Q., Zi W., Jiang G., Zhou Y., Yang Q. Age-related CCL12 Aggravates Intracerebral Hemorrhage-induced Brain Injury via Recruitment of Macrophages and T Lymphocytes // Aging and Disease, 2020, T. 11, № 5, C. 1103-1115.

10. Deng S., Jin P., Sherchan P., Liu S., Cui Y., Huang L., Zhang J.H., Gong Y., Tang J. Recombinant CCL17-dependent CCR4 activation alleviates neuroinflammation and neuronal apoptosis through the PI3K/AKT/Foxo1 signaling pathway after ICH in mice // Journal of Neuroinflammation, 2021, T. 18, № 1, C. 62.

11. Roy-O'Reilly M., Ritzel R.M., Conway S.E., Staff I., Fortunato G., McCullough L.D. CCL11 (Eotaxin-1) Levels Predict Long-Term Functional Outcomes in Patients Following Ischemic Stroke // Translational stroke research, 2017, T. 8, № 6, C. 578-584.

АВТОМАТИЧЕСКАЯ СЕГМЕНТАЦИЯ ТРАКТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ОЦЕНКА ИХ МИКРОСТРУКТУРНОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ

А.С. Филатов, Е.И. Кремнева, Л.А. Добрынина, М.В. Кротенкова

ФГБНУ «Научный центр неврологии», г. Москва

Введение. Диффузионная магнитно-резонансная томография (д-МРТ) является методом выбора в диагностике многих неврологических заболеваний [1]: острого ишемического инсульта, абсцессов головного мозга, эпидермоидных кист и др. Её также используют для сегментации проводящих путей головного мозга и оценки микроструктурной целостности вещества головного мозга (например, для оценки эффективности проводимой терапии [2] или степени реабилитационного потенциала больных, перенесших инсульт [3]). Активно исследуются новые методы анализа диффузионных данных. На смену гистограммам и ROI-анализу приходят тракт-ориентированные подходы, такие как метод пространственной статистики трактов («tract-based spatial statistics» или «TBSS») и недавно предложенный метод построения профилей трактов, позволяющий оценивать микроструктурные изменения на всем протяжении исследуемых трактов головного мозга [4]. Это особенно важно при проведении поисковых исследований, когда неизвестен точный уровень поражения трактов. Разработка и внедрение в клиническую практику новых методов анализа диффузионных данных является приоритетной медицинской задачей.

Цель исследования. Изучить новый алгоритм автоматической атлас-ориентированной сегментации трактов головного мозга и построения их профилей, позволяющий оценивать изменения диффузионных метрик по всей длине трактов головного мозга при разных заболеваниях центральной нервной системы (ЦНС).

Материалы и методы. Объектом изучения в настоящем исследовании являлись пациенты с церебральной микроангиопатией (ЦМА), боковым амиотрофическим склерозом (БАС), хроническим супратенториальным инфарктом мозга, рассеянным склерозом (РС), а также здоровые добровольцы, без клинических и нейровизуализационных признаков патологии головного мозга.

Всем обследуемым проводилась МРТ головного мозга на томографах Siemens Magnetom Verio и Siemens Magnetom Prisma (3 Тесла) (Siemens AG, Erlangen, Германия). Протокол сканирования включал в себя структурные режимы (T2, T2 FLAIR, T1 MPR, SWI, DWI) и диффузионную МРТ (д-МРТ) с получением карт сигнальных и тканевых моделей диффузии, сегментацией трактов головного мозга и построением их профилей.

С помощью оригинального алгоритма, созданного на основе скриптов Dipy [5], осуществлялась сегментация КСТ и 3 частей мозолистого тела (малых щипцов (колено),

центральных отделов (ствол), больших щипцов (валик)) с построением профилей метрик сигнальных и тканевых моделей диффузии.

Обработка данных включала в себя этапы, представленные на Рисунках 1-4.

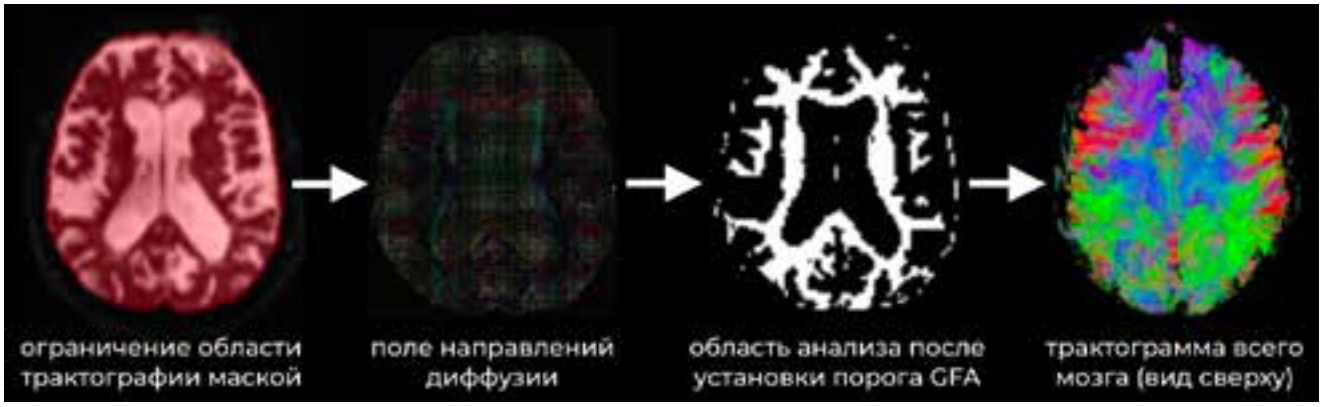


Рисунок 1. Построение трактограмм обследуемых с помощью алгоритма EuDX.

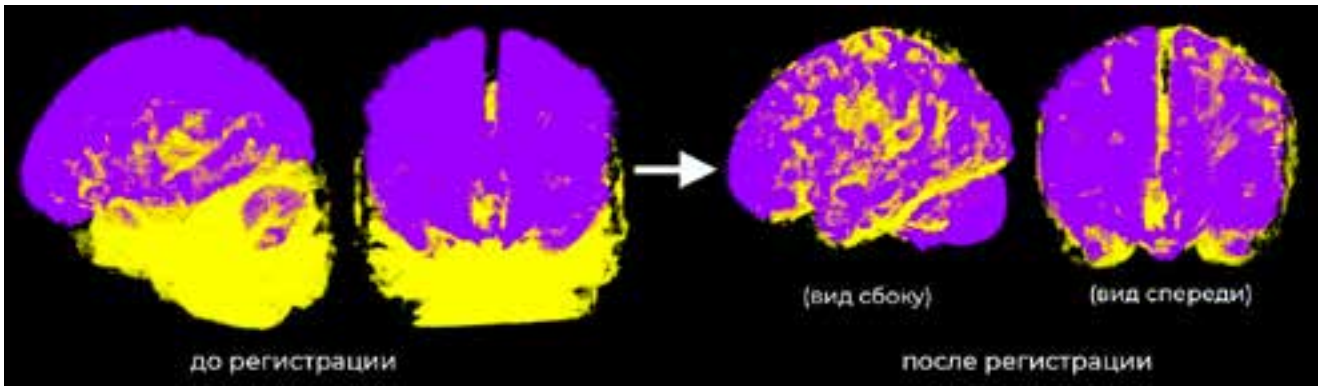


Рисунок 2. Регистрация трактограмм с атласом HCP842 методом Streamline-based Linear Registration (SLR)

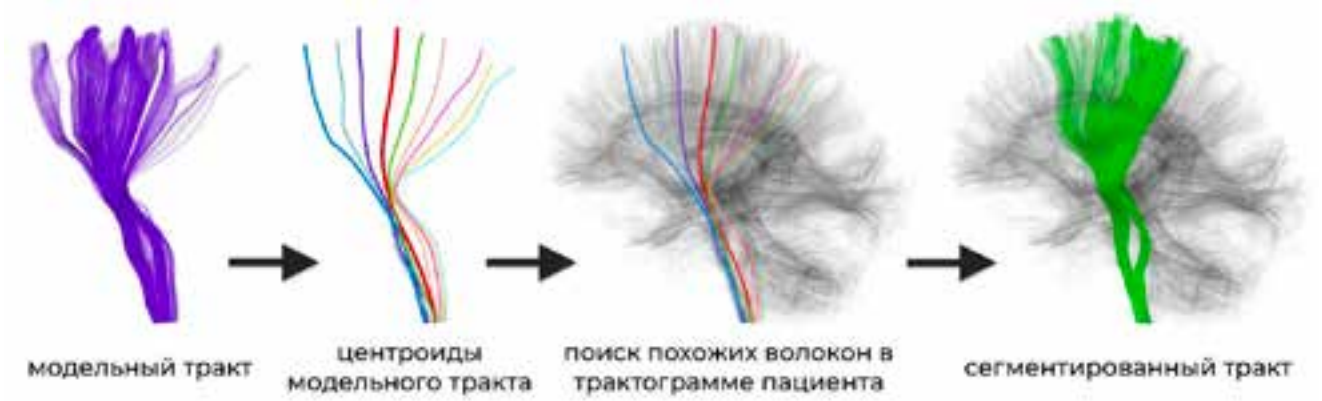


Рисунок 3. Сегментация трактов с помощью модифицированного алгоритма RecoBundles (показана на примере КСТ)

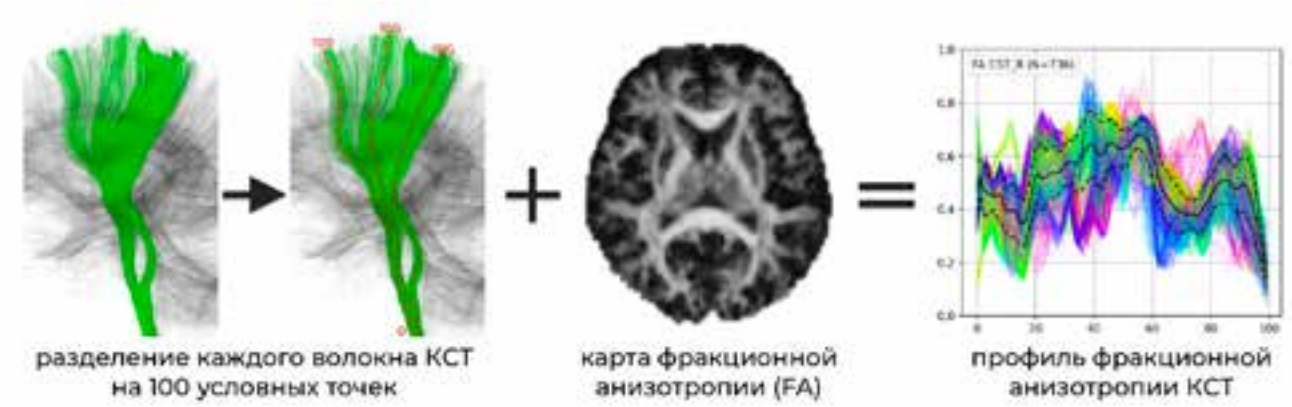


Рисунок 4. Построение профилей трактов (показано на примере КСТ)

Результаты. В рамках настоящего исследования были определены наиболее чувствительные метрики сигнальных и тканевых моделей диффузии, отражающие характер микроструктурных изменений вещества головного мозга и коррелирующие с тяжестью двигательных нарушений и степенью инвалидизации при различных заболеваниях ЦНС. Наиболее специфичные признаки аксональной дегенерации кортикоспинальных трактов (КСТ) были обнаружены на уровне ствола мозга, в то время как изменения на вышележащих уровнях оказались менее информативными. Мы также установили, что для демиелинизации характерно снижение индекса плотности нейритов (NDI) и объемной доли воды внутри аксонов (Intra), а характерным признаком персистирующего вазогенного отека является повышение объемной доли свободной воды (ISO). Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными, однако требуют подтверждения на большей выборке пациентов. Метод построения профилей трактов головного мозга показал свою высокую информативность и может использоваться в будущих научных исследованиях.

Заключение. В нашей работе впервые в России был применен новый алгоритм автоматической сегментации трактов головного мозга и построения их профилей. С его помощью определены наиболее значимые уровни поражения КСТ и мозолистого тела при заболеваниях ЦНС с разными патогенетическими механизмами, включая первичную дегенерацию (БАС), вторичную валлеровскую дегенерацию (хронический инфаркт мозга), демиелинизацию (РС) и смешанный механизм поражения белого вещества (ЦМА).

ЛИТЕРАТУРА

1. Winklewski, P.J. Understanding the physiopathology behind axial and radial diffusivity changes–what do we know? / P.J. Winklewski, A. Sabisz, P. Naumczyk et al. // Frontiers in neurology. – 2018. – V. 9. – P. 92;
2. Добрынина, Л.А. МРТ в оценке двигательного восстановления больных с хроническими супратенториальными инфарктами / Л.А. Добрынина, Р.Н. Коновалов, Е.И. Кремнева и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2012. – Т. 6. – No 2. – С. 4–10;
3. Максимова, М.Ю. Оценка прогноза восстановления двигательной функции у больных с ишемическим инсультом с помощью диффузионно- тензорной магнитно-резонансной томографии / М.Ю. Максимова, Т.А. Попова, Р.Н. Коновалов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116. – No 8-2. – С. 57–64;
4. Hecke, W.V. DTI analysis methods: voxel-based analysis / W.V. Hecke, A. Leemans, L. Emsell // Diffusion tensor imaging / Edit. W.V. Hecke, L. Emsell, S. Sunaert. – New York: Springer New York: 2016. – P. 183–203;
5. Garyfallidis, E. Dipy, a library for the analysis of diffusion MRI data / E. Garyfallidis, M. Brett, B. Amirbekian et al. // Frontiers in neuroinformatics. – 2014. – V. 8. – P. 8.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПСИХИАТРИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ НА РАЗВИТИЕ ДЕМЕНЦИИ У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ МЯГКОГО КОГНИТИВНОГО СНИЖЕНИЯ

Н.С. Черкасов, мл.н.с. отдела гериатрической психиатрии
ФГБНУ НЦПЗ

Решение проблемы профилактики когнитивных расстройств, на додементном уровне является крайне актуальной задачей, которая может привести к снижению уровня инвалидизации в позднем возрасте и уменьшению расходов в системе государственного здравоохранения. Исследования в данной области привели к созданию концепции мягкого когнитивного снижения - сокр. МКС (англ. Mild Cognitive Impairment, сокр. MCI, синоним - «сомнительная деменция») как ранней симптоматической (предементной) стадии болезни Альцгеймера и других первичных нейродегенеративных заболеваний. Синдром МКС отражает высокий риск прогрессирующего ухудшения когнитивных функций до стадии деменции в течение ближайших 3-5 лет [1]. У лиц с МКС помимо когнитивных нарушений могут наблюдаться психические расстройства (синоним-нейропсихиатрические), которые еще более повышают риск развития деменции, о чем свидетельствуют результаты мета-анализа [2]. Презентация психических расстройств в пожилом возрасте имеет свои особенности, в частности, у некоторых пациентов психопатологические симптомы явно не звучат в жалобах, четко не очерчены, носят латентный, «бытовой» характер. Эта группа субклинических симптомов не менее важна в оценке прогноза развития деменции, так как, по данным немногочисленных исследований, они с одной стороны повышают риск наступления неблагоприятного исхода у части пациентов с уже сформированным MCI, а с другой – являются своеобразным «поведенческим», некогнитивным продромом нейродегенеративного заболевания у пожилых с сохранным когнитивным функционированием, получившим название mild behavioral impairment (сокр. MBI, синоним – «субклинические психические нарушения») [3]. Остается чрезвычайно актуальным и мало изученным вопрос о том, как соотносятся в прогностическом плане когнитивные и поведенческие расстройства (т.е. категории MCI и MBI) на доклиническом этапе развития нейродегенеративной деменции.

Целями данного исследования были: оценка распространенности MBIв когорте пожилых людей с MCI; разработка типологической структуры синдрома MBI; динамическая оценка исходов с анализом влияния психопатологических симптомов.

Материалом к настоящему исследованию послужила проспективно наблюдаемая когорта пожилых людей с установленным диагнозом синдрома МКС. Набор участников проходил в

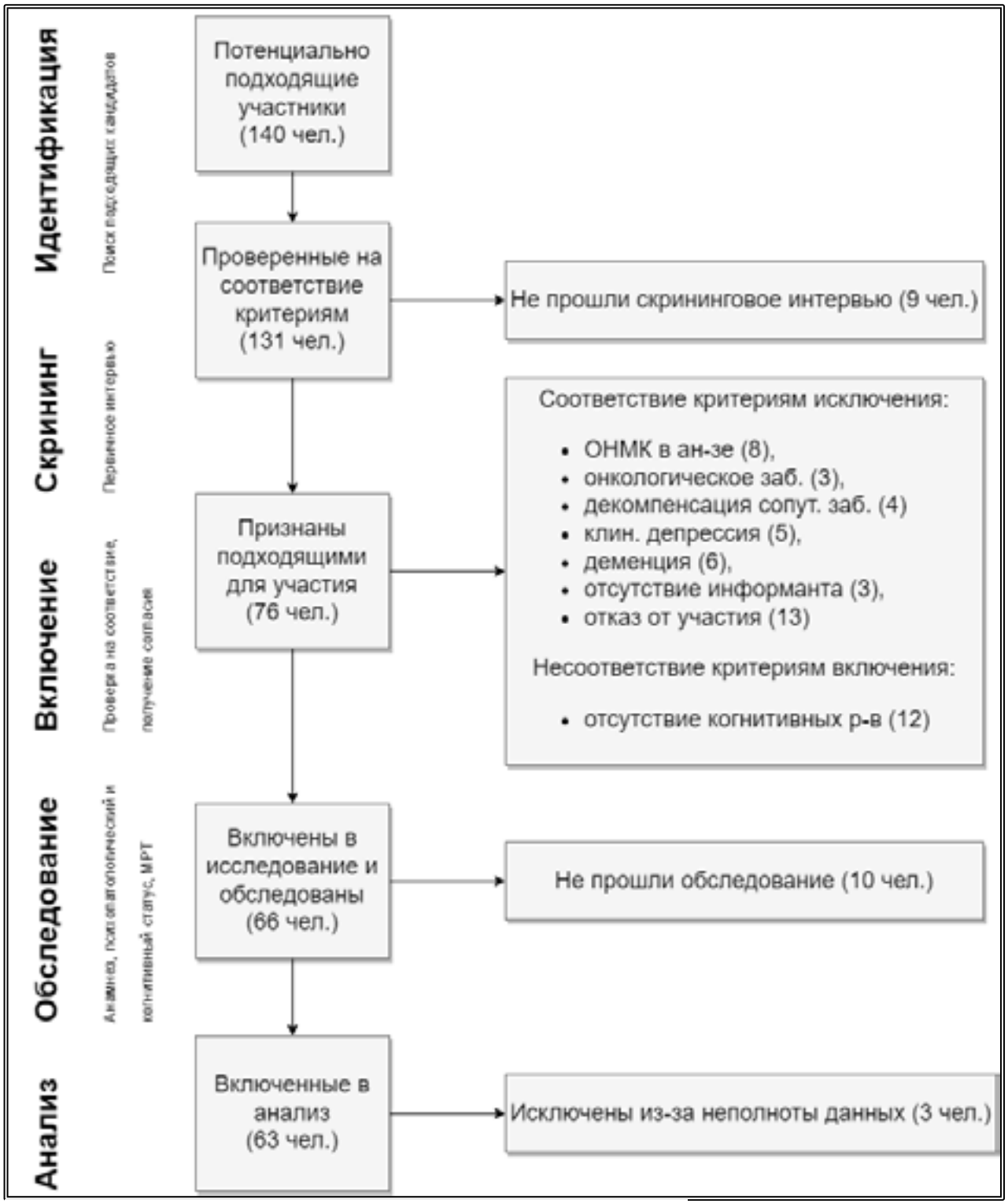


Рисунок 1. Флоучарт набора пациентов в исследование

несколько этапов (Рис. 1): на первом этапе (идентификация) проводился поиск потенциальных участников среди обратившихся за помощью в амбулаторное подразделение клиники ФГБНУ НЦПЗ, а также среди посещающих курсы нейрокогнитивной реабилитации в “Клинике памяти” при филиале №4 “ПКБ №13 ДЗМ (заведующий филиалом Степанова О.Б., главный врач Тер-Исраелян

А. Ю.). На этапе скрининга сопоставлялись критерии включения и исключения. Затем отобранные участники приглашались на краткое интервью, где обсуждались условия участия в исследовании, оценивались возможность и желание пациента пройти углубленное обследование и регулярно посещать врача, по результатам которого принималось решение о включении пациента в исследование. В рамках углубленного обследования пациенты, давшие информированное добровольно согласие, проходили клиническое интервью, включавшее сбор анамнеза, оценку психопатологического и когнитивного статуса (комплексную оценку по шкале CDR, батарею когнитивных тестов - MMSE, MoCA, FCSRT-IR, психопатологические симптомы оценивались по шкалам: NPI, MBI-C). В дальнейшем не ранее чем через 6 мес. проводилась повторная оценка психического и когнитивного статуса участников для выявления т.н. «конвертеров» - пациентов, у которых при последующем визите развился синдром деменции. Учет факторов риска проводился в соответствии с рекомендациями отечественных и зарубежных исследователей [4]. Статистический анализ собранных данных проводился на программном обеспечении RStudio (версия 2023.09.0; R version 4.3.1) при помощи пакетов: tidyverse, ggplot2, hmisc, survival. Проводился межгрупповой, корреляционный, частотный анализ с применением Wilcoxon-Mann-Whitney rank sum теста для попарных сравнений непараметрических переменных, Kruskall-Walles rank sum теста для сравнения 3 и более непараметрических континуальных переменных, Pearson’s Chi-squared тест для порядковых переменных. Для проверки гипотезы о нормальности распределения проводился тест Колмогорова-Смирнова. Оценка корреляционных связей проводилась с использованием методов линейной регрессии для континуальных переменных и логистической регрессии $\chi 2$ для порядковых и номинальных переменных. Анализ динамики, частоты и риска развития деменции проводился с помощью построения моделей пропорциональных рисков Cox proportional hazards regression model. Результаты проверок статистических гипотез считались достоверно значимыми при уровне ошибки, не превышающем 5% ($p < 0.05$).

В результате была сформирована выборка из 63 чел., их демографическая характеристика представлена в Табл. 1. Все участники исследования на момент включения находились на пенсии. Половозрастное соотношение характеризовалось преобладанием женщин пожилого и старческого возраста (медиана - 72 [68;77]). Подавляющее большинство участников (74.6%) имели высшее образование, четверть – среднее специальное. Треть участников (36.5%) на момент включения состояли в браке, больше половины к этому моменту находились в разводе (27%) или овдовели (31.7%), 3 человека никогда не состояли в браке. Почти половина участников (46%) во время включения в исследование проживали отдельно и самостоятельно вели домашнее хозяйство, остальные испытуемые жили вместе с родственниками.

Таблица 1. Демографические сведения

Параметр	**Значение**[1]	**Параметр**	**Значение**[1]
Пол		**Семейныйстатус**	
Женский	57 (90.5%)	В браке	23 (36.5%)
Мужской	6 (9.5%)	В разводе	17 (27.0%)
Возраст, лет	72 [68– 77]	Вдовец/вдова	20 (31.7%)
Уровеньобразования		Не был/а в браке	3 (4.8%)
Общее	1 (1.6%)	**Проживание**	
Среднееспециальное	15 (23.8%)	Самостоятельно	29 (46.0%)
Высшее	47 (74.6%)	С семьей	34 (54.0%)
[1] n (%), Median [IQR]			

Были проанализированы 14 основных ФР: связанные с сердечно-сосудистой (АГ, ИБС), эндокринной системой (СД2, ожирение), сенсорным дефицитом (тугоухость), психическим состоянием (жалобы на пониженное настроение), семейной историей или анамнезом заболевания (наследственная отягощенность нейроденегеративными заболеваниями, перенесенная травма головы, COVID-19), а также средовые факторы (курение, алкоголь, гипоактивный образ жизни, одиночество, низкий уровень образования). Учитывались только те медицинские состояния, о которых имелась достоверная и подтвержденная информация по данным медицинской документации. Курение считалось фактором риска в случаях продолжающегося активного курения (больше 10 сигарет/день), а также при наличии «стажа» курильщика в анамнезе более 10 лет. Употребление алкоголя учитывалось как фактор риска в случае употребления 2 и более стандартных доз алкоголя в неделю (1 с.д. алкоголя = 10 г чистого этанола).

Наиболее распространенными оказались ФР, связанные с сердечно-сосудистой патологией, отягощенным семейным анамнезом, психическим состоянием. Менее четверти больных перенесли COVID-19, а также имели неблагоприятные средовые факторы в виде гипоактивного образа жизни и курения. Состояния, связанные с заболеваниями эндокринной системы, встречались реже – у 17% отмечалось ожирение (ИМТ более 30), у 11% - СД2. Наименее распространенными в нашей выборке оказались средовые факторы, связанные с одиночеством, употреблением алкоголя, низким уровнем образования.

По результатам клинико-психопатологической и психометрической оценки, все пациенты были поделены на 2 группы в соответствии с преобладанием когнитивных либо психопатологических нарушений (КН и ПН соответственно). Сравнительные результаты оценок

согласно выделенным группам приведены в Табл. 2. Клиническая картина первой группы (N=31) была обусловлена в большей степени когнитивной дисфункцией с преимущественно полифункциональным типом нарушений. К ним относились речевые, оптико-пространственные нарушения, сниженная концентрация внимания, негрубые нарушения ориентировки наряду с нарушением краткосрочной памяти, хотя и не столь выраженным. Встречался и амнестический тип нарушений, хотя и не преобладавший у пациентов этой группы.

Пациенты второй группы (N=32) составили лица с сочетанием как умеренных когнитивных, так и психопатологических расстройств. Среди когнитивных расстройств здесь чаще выделялся амнестический синдром, вклад которого в клиническую картину обусловил более низкие результаты по шкалам при групповом анализе. Оценка психопатологического состояния этих пациентов выявила преобладающую распространенность нарушений депрессивного плана. Прежде всего в этой группе больных преобладали симптомы, связанные с явлением негативной аффективности – чаще других они переживали чувство утраты интереса к делам и вещам, прежде их занимавшим, жаловались на потерю прежней любознательности и тяги к освоению новой информации. Они испытывали трудности с тем, чтобы инициировать какую-либо активность, связанную с их увлечениями или социальным окружением, нередко испытывали нежелание начать разговор, позвонить близкому человеку. Родственники больных сообщали, что их близкие с возрастом становились менее эмоциональными, проявляли равнодушие в вопросах, которые ранее всегда были значимыми для них. Пациенты этой группы чаще других переживали чувство тревоги, необоснованно повышенное беспокойство в привычных делах. Также у больных отмечались проявления эмоциональной лабильности, они жаловались на повышенную готовность заплакать по малозначительному поводу. Эпизодические перепады настроения носили оттенок грусти, меланхолии, больные сообщали о преходящем чувстве покинутости, ненужности, местами излишне критично оценивали свое состояние, высказывая мысли об утрате прежних умственных способностей и переживая собственную измененность, неполноценость в свете имеющихся когнитивных трудностей. В то же время у данных пациентов наблюдались свойственные пожилому возрасту характерологические изменения, зачастую описываемые родственниками и близкими членами семьи больного. К таким изменениям относились повышенная потребность во внимании, упертость в незначимых бытовых вопросах, непринятие чужого мнения, желание навязать окружающим их собственное мировоззрение. Нередко подобные состояния описывались как эмоциональная черствость, нечувствительность по отношению к другому, доходящая порой до проявлений раздражительности в неудовлетворенных желаниях пациента. Общее состояние больных этой группы тем не менее оставалось удовлетворительным, при комплексной оценке их

аффективного статуса не выявлялось признаков клинической депрессии, одолевающей меланхолии и внешних, соматических ее проявлений. Больные сохраняли активность в социально-бытовой жизни, полностью себя обслуживания, прибегая к помощи со стороны лишь в наиболее сложных, зачастую инструментальных, непривычных житейских актах.

В силу особенностей изучаемых состояний – двух пограничных по своей сути синдромов – определенные сложности вызвало разграничение пациентов с сопоставимой выраженностью когнитивных и психопатологических расстройств. Оба синдрома являются переходными состояниями между нормальным старением и деменцией с одной стороны, нормальным повседневным функционированием и нерезко выраженным, субклиническим психопатологическим образованием – с другой. Названные трудности были преодолены путем стратификации выборки на квартили соответственно количественной оценке когнитивных и психопатологических симптомов с последующим ранжированием и группировкой.

Пациенты обеих групп не отличались по возрасту начала заболевания, а также имели сопоставимый профиль накопления ФР. Так, в обеих группах дебют заболевания приходился на сенильный возраст (медиана 69 [63;73]), в то время как у 18 пациентов (28.5%) отмечалось пресенильное начало. По сумме учтенных ФР каждому пациенту была присвоена категория накопления: «низкая» (0-1), «средняя» (2-3) и «высокая» (3 и более), по которым пациенты обеих групп распределились практически равномерно. При рассмотрении группы пациентов, перенесших в том или ином виде коронавирусную инфекцию (N=15), существенных клинических и статистически значимых особенностей обнаружено не было. Их состояние когнитивных функций по результатам прохождения соответствующих шкал было сопоставимо медианным показателям остальной выборки. Распространенность психопатологической симптоматики, оцениваемой по результатам шкалы MBI-C, также значимо не отличалась от остальной выборки.

Анализ результатов выполнения когнитивных шкал продемонстрировал отсутствие значимых межгрупповых различий среди пациентов по баллу MMSE, а также параметрам теста FCSRT-IR. Достоверно значимые различия были получены только по Монреальской шкале, где пациенты группы с преобладанием психопатологических расстройств набирали более низкий балл (22 [20;24]). В тестах на вербальную беглость были получены достоверные межгрупповые различия по показателю литеральных ассоциаций, которые показали более низкий балл (10 [7;13]) у пациентов «поведенческой» группы.

Таблица 2. Сравнительная характеристика клинических групп

Параметр	**Всего**, N = 63[1]	**Группа с преобладанием КН**, N = 31	**Группа с преобладанием ПН**, N = 32	**p-value**[2]
Возраст дебюта заболевания, лет	69 [63, 73]	69 [62, 72]	69 [64, 74]	0.9
Накопление факторов риска				0.7
0-1	14 (22.2%)	8 (25.8%)	6 (18.8%)	
2-3	29 (46.0%)	13 (41.9%)	16 (50.0%)	
3 и более	20 (31.7%)	10 (32.3%)	10 (31.3%)	
MoCA, балл	**24 [22, 26]**	**25 [24, 28]**	**22 [20, 24]**	**<0.001**
MMSE, балл	27 [26, 28]	27 [26, 29]	26 [25, 28]	0.086
СУМ СП, слов	21 [12, 28]	23 [13, 30]	16 [10, 25]	0.13
СУМ ОИ, слов	43 [30, 46]	45 [36, 47]	42 [30, 46]	0.6
ИП, %	81 [50, 93]	81 [63, 94]	82 [47, 91]	0.7
Вербальнаябеглость – семантическая, слов	12 [9, 15]	13 [10, 16]	11 [7, 14]	0.068
Вербальнаябеглость – литеральная, слов	**11 [8, 15]**	**13 [10, 15]**	**10 [7, 13]**	**0.021**
MBI – апатия, балл	**2 [0, 5]**	**1 [0, 3]**	**4 [1, 6]**	**0.009**
MBI – депрессия, балл	**2 [0, 4]**	**1 [0, 2]**	**3 [1, 7]**	**<0.001**
MBI – ажитация, балл	**1 [0, 3]**	**1 [0, 1]**	**3 [1, 6]**	**<0.001**
MBI – сумма, балл	**7 [3, 14]**	**3 [2, 6]**	**12 [7, 18]**	**<0.001**

[1] Median (IQR); n (%)
[2] Wilcoxon rank sum test; Pearson’s Chi-squared test
СУМ СП – суммарное свободное припоминание (без подсказки) за 3 попытки в тесте FCSRT
СУМ ОИ – суммарный общий итог припоминания (свободное и с подсказкой) за 3 попытки в тесте FCSRT
ИП – индекс подсказок, рассчитанный как процентное отношение разности между свободным и опосредованным припоминанием к разности максимально возможного и общего итога припоминания

Таким образом, общая распространенность MBI в исследуемой когорте составила 38% (MBI-C score cutpoint >= 10), а наиболее часто встречающимися группами субклинических психопатологических симптомов стали: тревога и депрессия (47% тех, кто набрал хотя бы 1 балл хотя бы в 1 вопросе), затем апатия и ангедония поровну с ажитацией/ расторможенностью/ раздражительностью – по 42%. Остальные группы симптомов набрали не более 10%.

При обследовании пациентов в динамике не ранее чем через 6 мес. (средний период наблюдения конвертеров – 14 мес.) было выявлено 16 случаев конверсии в деменцию. Нозологически эти случаи подразделились на: деменцию альцгеймеровского типа (ДАТ) – 13 случаев и лобно-височную деменцию (ЛВД) – 3 случая (1 поведенческий вариант, 2 семантических варианта ЛВД). Среди конвертеров преобладали пациенты из группы с преимущественно поведенческими расстройствами в силу подавляющего амнестического профиля когнитивных расстройств и наличия нейропсихиатрических симптомов. Дальнейший анализ вклада указанных симптомов в прогрессирование когнитивного дефицита по результатам динамического наблюдения показал, что наибольшее прогностическое значение имели симптомы, связанные с субпсихотическими переживаниями в виде иллюзий, наличия стойких убеждений, бредовых установок, ограниченных местом проживания больного и носящих «бытовой» характер, т.н. бред «малого размаха». Как видно из Рис. 2, остальные группы симптомов, относящиеся к аффективным и собственно «поведенческим» расстройствам, не имели статистически значимого влияния на конверсию.

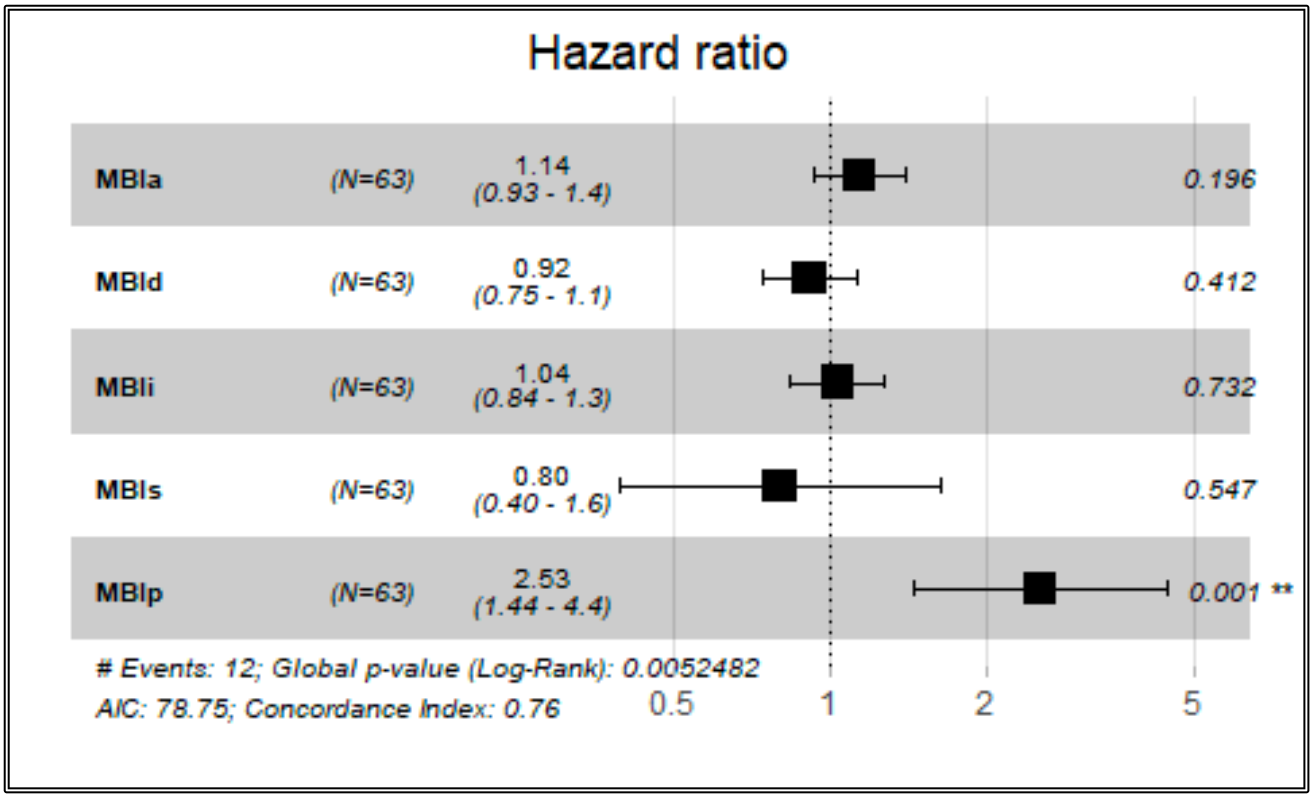


Рисунок 2. Модель пропорциональных рисков (HR) наступления деменции по группам психопатологических симптомов. MBIa – апатия, MBId – депрессия, MBIi – ажитация, MBIs – нарушения поведения в обществе, MBIp–субпсихотические симптомы

По итогам проведенной работы становится ясно, что тема соотношения когнитивных и психических расстройств является сложной и многоуровневой в контексте ранней диагностики

нейродегенеративных заболеваний. Исследование подчеркивает важность дальнейшей разработки синдрома субклинических психопатологических симптомов у пожилых людей с MCI с целью построения достоверных прогностических моделей различных по своим проявлениям типов данного синдрома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова С.И. Додементные нейрокогнитивные расстройства: диагностические и терапевтические аспекты // Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени В.М.Бехтерева. – 2018. – №1. – с. 89-98.
2. Mallo S.C., Patten S.B., Ismail Z., Pereiro A.X., Facal D., Otero C. et al. Does the neuropsychiatric inventory predict progression from mild cognitive impairment to dementia? A systematic review and meta-analysis // Ageing Res Rev. –2020. – №58. –101004.
3. Creese, B., Brooker, H., Ismail, Z., Wesnes, K. A., Hampshire, A., Khan, Z., Ballard, C. Mild Behavioral Impairment as a Marker of Cognitive Decline in Cognitively Normal Older Adults // The American Journal of Geriatric Psychiatry.–2019.– №27(8). – с. 823-834.
4. Livingston, G. et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission // TheLancet. – Volume 396. – Issue 10248. – с. 413 – 446.
5. Лобзин В. Ю., Емелин А. Ю., Одинак М. М. Профилактика развития деменции: о чем должен знать каждый? // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2021. – Т. 40, № S4. – С. 75-80.

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ДЕМЕНЦИЙ

Ю.А. Шпилюкова, К.В. Невзорова, Н.Ю. Абрамычева, Е.Ю. Федотова, А.А. Шабалина, С.Н. Иллариошкин

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

Актуальность. Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенная форма деменции, верификация которой требует биомаркерного подтверждения (Dubois et al., 2021). Генетическое тестирование при БА играет важную роль при диагностике ранних наследственных форм заболевания (около 10%), и при оценке риска развития заболевания на основании аллельных вариантов гена *APOE*. Лобно-височная деменция (ЛВД) является второй по частоте причиной деменции с ранним началом с высокой частотой генетических форм, и результат генетического скрининга может использоваться в качестве подтверждающего биомаркера заболевания.

Цель исследования. Оценить роль генетических маркеров в диагностике БА и ЛВД, а также их связь с ликворными биомаркерами при БА.

Материалы и методы. В исследование включены 2 группы пациентов. Группа 1 с фенотипом типичной амнестической (n=30) и атипичными фенотипами БА (n=24). Всем пациентам проведена люмбальная пункция с исследованием биомаркеров ЦСЖ (амилоид-бета 1-42 и фосфорилированный тау-белок 181), определен генотип *APOE*. 1 пациентке с ранним атипичным началом заболевания и отягощенным семейным анамнезом, выполнено панельное NGS секвенирование. Группа 2 включала пациентов с клинически верифицированным диагнозом ЛВД (n=265, 108 семейные). ДНК-диагностика на наличие экспансии повторов в гене *C9orf72* выполнена 228 пациентам (108 семейные), оценка наличия мутаций в гене *GRN* и *MAPT* выполнена 80 пациентам (35 семейные).

Результаты. В группе 1 на основании результатов исследования ЦСЖ выделены подгруппы с вероятной (n=21), возможной (n=10), и исключенной БА (n=23). Частота гомозиготного носительства аллеля ε4 в гене *APOE* в подгруппах составила 9,5%, 10% и 4,3% соответственно, гетерозиготного – 61,9%, 30% и 34,7% соответственно. По количественному показателю уровня Aβ1-42 в ЦСЖ выявлено различие между носителями аллеля ε4 (в гомо- и гетерозиготном состоянии) и не-носителями ($p = 0,027$). У 1 пациентки выявлена патогенная мутация в гене *PSEN1*. В группе 2 частота носительства мутаций в гене *C9orf72*, *GRN* и *MAPT* составила 6%, 13% и 3% соответственно (среди семейных случаев 11%, 19% и 3% соответственно).

Заключение и выводы. Выявлена более высокая частота встречаемости аллеля ε4 как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии у пациентов с подтвержденной патологией БА, а также более низкие уровни маркера Аβ1-42 в ЦСЖ у данной категории пациентов, что согласуется с данными мировой литературы. Генетическое тестирование на выявление моногенных форм ЛВД и БА необходимо для достоверной верификации диагноза при наличии характерной клинической картины, особенно при наличии отягощенного семейного анамнеза.

Сведения об авторах

Шпилюкова Юлия Александровна – к.м.н., научный сотрудник, врач-невролог, ФГБНУ НЦН

Невзорова Ксения Васильевна – аспирант, врач-невролог, ФГБНУ НЦН

Абрамычева Наталья Юрьевна – к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующая молекулярно-генетической лабораторией, ФГБНУ НЦН

Федотова Екатерина Юрьевна – д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель 5 неврологического отделения, ФГБНУ НЦН

Шабалина Алла Анатольевна – д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель отдела лабораторной диагностики, ФГБНУ НЦН

Иллариошкин С.Н. – д.м.н., академик РАН, заместитель директора по научной работе, директор Института мозга, ФГБНУ НЦН

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ

Кольцов Николай Константинович (1872–1940)

«Обязанность» учёных – очищать мировоззрение современников от заблуждений»

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАРИАНТОВ SARS-COV-2 НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

А.А. Белик*

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, 690087, Владивосток, Россия

*belik_a_a@mail.ru

Аннотация

Был проведён ретроспективный эпидемиологический анализ динамики циркуляции геновариантов SARS-CoV-2 в период пандемии этого заболевания (11.03.2020-05.05.2023) на территории Приморского края. Были использованы данные Центра гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора (НИИЭМ) и Российской платформы агрегации информации о геномах вирусов (VGARus) – в частности: 1055 нуклеотидных последовательностей полноразмерных геномов SARS-CoV-2 из Приморского края, среди которых 553 были секвенированы в НИИЭМ. Было показано, что в начале пандемии в Приморском крае, как и по всей России, доминировали Ухань-подобные варианты SARS-CoV-2, в дальнейшем – геновариант Дельта и Омикрон. К концу апреля – началу мая 2023 г. доля субвариантов Омикрона (XBB.1.9.2 и XBB.1.16) в Приморском крае была выше, чем в среднем по России и сопоставима с таковой в сопредельных странах (Республике Корея и Японии).

Ключевые слова: SARS-CoV-2; COVID-19; Приморский край; полногеномное секвенирование; генотипы.

Введение

Коронавирусное заболевание 2019 г. (COVID-19 – Coronavirus disease 2019), этиологически связанное с коронавирусом тяжёлого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (Nidovirales: Coronaviridae, *Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*) [1, 2], возникло в результате преодоления возбудителем межвидового барьера и проникновения из популяций летучих мышей (Chiroptera, Microchiroptera) в человеческую популяцию [3, 4].

Российская Федерация, обладает значительным региональным разнообразием природно-климатических и социально-демографических условий, влияющих на распространение инфекционных заболеваний. Так, Приморский край (ПК), расположенный на юге российского Дальнего Востока, тесно связан как с регионами Центральной России, так и со странами Азиатско-Тихоокеанского региона.

Представленная работа посвящена молекулярно-генетическому анализу закономерностей развития эпидемического процесса COVID-19 на территории ПК в период этого заболевания (2020-2023 гг.).

Материалы и методы

Отбор образцов для секвенирования. Исследуемый материал (назофарингеальные смывы), поступал от проживающих в Приморском крае пациентов с диагнозом по международной классификации болезней 10 пересмотра – U07.1 (коронавирусная инфекция COVID-19, вирус идентифицирован) и U07.2 (коронавирусная инфекция COVID-19, вирус не идентифицирован) полученные с марта 2020 г. по июнь 2023 г. Биологический материал, идентифицированный как положительный на наличие РНК SARS-CoV-2, хранился при минус 20 °С. Перед секвенированием отобранные образцы заново анализировали на наличие РНК SARS-CoV-2 с помощью набора реагентов «ОТ-ПЦР-РВ-SARS-CoV-2» (НПФ Синтол, Россия). Выделение тотальной РНК проводили на автоматической станции AutoPure 96 (Allsheng, Китай) с использованием набора реагентов «ОТ-ПЦР-РВ-SARS-CoV-2» (НПФ Синтол, Россия).

Подготовка библиотек и полногеномное секвенирование. Секвенирование полноразмерного генома SARS-CoV-2 проводили для положительных образцов с пороговым циклом ($Ct \leq 25$) при первичном ПЦР-тестировании на технологической платформе Nanopore [5, 6] согласно протоколу ARTIC SARS-CoV-2 v3: обратную транскрипцию осуществляли с помощью набора Midnight RT-PCR Expansion; ампликоны получали и кодировали с использованием 29 пар перекрывающихся праймеров и Rapid Barcoding Kit 96 (SQK-RBK110.96); очистку кДНК проводили на магнитных частицах AMPure XP beads; полученные геномные библиотеки секвенировали на приборе MinION с использованием ячеек FLO-MIN106 R9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Полученные данные в формате FAST5 (программный пакет MinKNOW переводили в формат FASTQ с помощью программы Guppy v6.3.8. Сборку геномов SARS-CoV-2 в формате FASTA проводили путем выравнивания относительно референсных последовательностей из VGARus с использованием программного пакета Epi2me v.22 и модуля ARTIC v1. Для оценки качества собранных последовательностей и распределения геномов по линиям использовали сервисы Nextclade и Pangolin COVID-19 Lineage Assigner v4.3. Последовательности, в которых количество нераспознанных или неоднозначных нуклеотидов, составляли более 10 % полногеномной последовательности SARS-CoV-2, были исключены из выборки для анализа.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили после множественного выравнивания с использованием программы MAFFT v7.475 методом ближайших соседей [7] средствами программного пакета MEGA v11.0.13 при уровне bootstrap-

поддержки в 1000 повторов. Визуализацию полученных данных осуществляли с помощью сервиса iTOL v6.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного пакета MS Excel 2010.

Результаты

Полногеномные нуклеотидные последовательности SARS-CoV-2, которые были получены из образцов биологического материала, собранного на территории ПК в период пандемии COVID-19, представлены в табл. 1. Помимо 553 геномов, секвенированных в ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора в рамках реализации Федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья», ещё 502 генома были секвенированы в других научных учреждениях, в которые были направлены ОТ-ПЦ-РВ-положительные образцы из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае» в соответствии с Приказом Роспотребнадзора от 19.02.2021 № 56 «О совершенствовании молекулярно-генетического мониторинга штаммов возбудителя новой коронавирусной инфекции».

Таблица 1. Данные о полногеномных последовательностях SARS-CoV-2, обнаруженных на территории Приморского края (2020–2023 гг.), в базе данных VGARus

Год	**НИИЭМ (Владивосток)**	**ГНЦ ВБ Вектор (Новосибирск)**	**НИИ гриппа (Санкт-Петербург)**	**Всего**
2020	173	2	23	198
2021	90	11	1	102
2022	105	158	306	569
2023	185	0	1	186
Итого:	553	171	331	1055

Результаты филогенетического анализа полноразмерных геномов SARS-CoV-2 с территории ПК (табл. 1), представленные на рис. 1, свидетельствуют о дифференцировке на геновариантов по классификации Pango.

Из 1055 рассматриваемых последовательностей, 21,4% принадлежали к Ухань-подобным геновариантам (B.1.1 + B.1.1.x); 18,9% – к геновариантy Дельта (линии B.1.617.2 и AY.x); 59,7 - в варианту «Омикрон» (17,9% – к линии BA.1; 6,5% – к BA.2; 18,4% – к BA.5; 16,9% - к линиям XBB.x).

Молекулярно-генетическая динамика смен геновариантов SARS-CoV-2 на территории ПК (2020–2023 гг.) представлена на рис. 2 и в табл. 2. В Приморском крае, как и по всей России [8], выделяется семь периодов подъёма заболеваемости COVID-19.

В I подъём заболеваемости COVID-19 в РФ выделяли в основном Ухань-подобные варианты возбудителя: 65,3% [8]. В ПК большинство геновариантов вируса также относились к линиям B.1.1 (26 %) и B.1.1.x (B.1.1.317 и B.1.1.277.2) (74 %).

Во время II подъёма доля B.1.1 в РФ снизилась до 33,7 %, а доля B.1.1.317 и B.1.1.523 увеличилась до 21,3 %; появились новые геновариантs: Альфа (B.1.1.7) (7,2 %) и Дельта (B.1.617.2) (1,6 %). В ПК в этот период доминировала генетическая линия B.1.1 (68,4 %); прочие геновариантs B.1.1.x (прежде всего, B.1.1.317 и B.1.1.277.2) в совокупности составили 31,6 %.

Во время III и IV периодов в РФ и в ПК активно шел процесс изменения биологических свойств возбудителя: доля геновариантa Дельта (B.1.617.2.x) увеличилась до 93-97 %, практически вытеснив все ранее циркулировавшие линии.

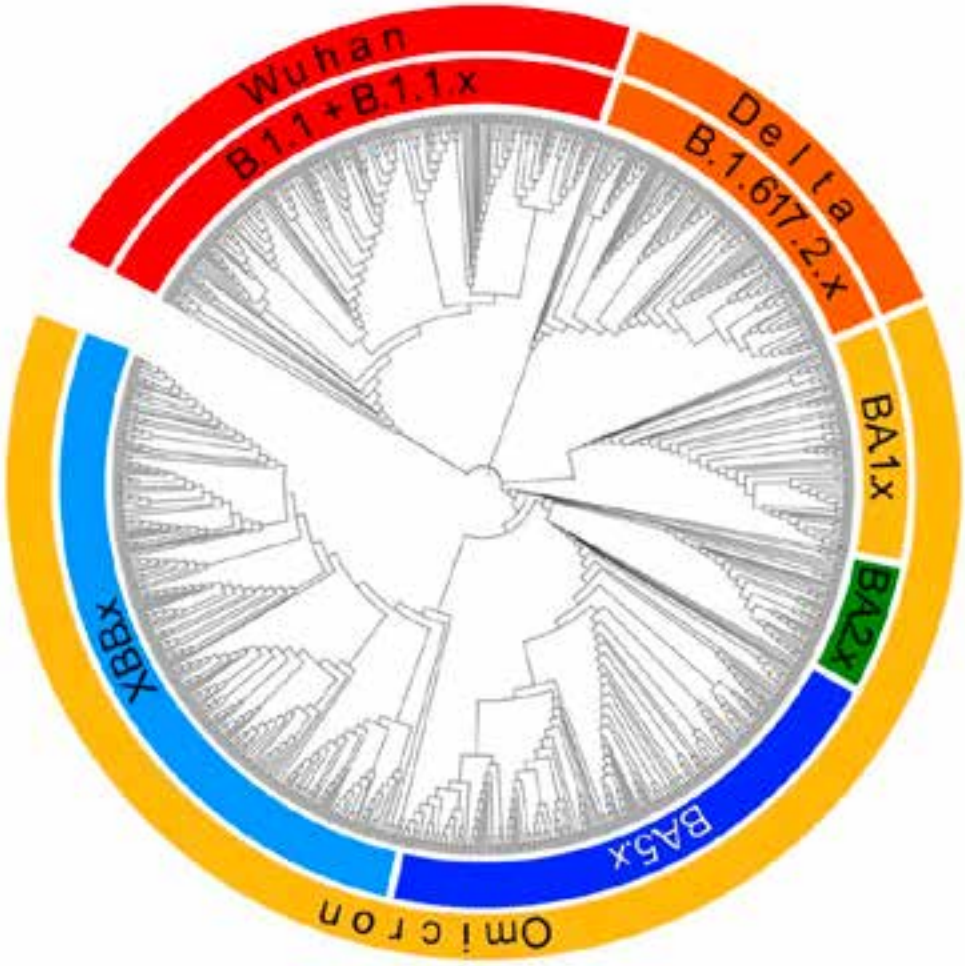
V подъём заболеваемости в целом по РФ и в ПК был обусловлен совместной циркуляцией уходящего варианта Дельта (B.1.617.2.x) и приходящих ему на смену первых двух линий варианта Омикрон (BA.1.x и BA.2.x). К концу V периода в мире установилось доминирование варианта Омикрон.

Сублинии Омикрона BA.5.x, доля которых увеличилась до 90 %, вызвали VI подъём заболеваемости в различных регионах РФ.

В VII период значительно увеличилось разнообразие субвариантов Омикрона, один из них, XBB, быстро распространился по всему миру. К концу января 2023 г. в РФ в целом, и в ПК субварианты XBB.x преобладали, их доля в структуре субвариантов Омикрона возросла до 62,3 % и до 92,8 %, соответственно.

В VII эпидемическом периоде (май 2023 г.) в ПК преобладал вариант XBB.x, впервые зарегистрированный 31.01.2023 (линия XBB.1.14), к концу марта - линия XBB.1.5.24 (подвид варианта XBB.1.5 «Кракен»), к 05.05.2023 доминирующим стал вариант XBB.1.9.1 «Гиперион». Особенно важно отметить высокую долю вариантов XBB.1.5.24 (9 % в ПК и 6 % по РФ в целом) и XBB.1.9.1 (45 % и 51 %, соответственно), что резко контрастировало с генетическим пейзажем штаммов SARS-CoV-2 в сопредельных странах Юго-Восточной Азии (рис. 4). Такая картина, возможно, является следствием своевременного введения в РФ жёстких ограничительных мер, включающих прекращение транспортного сообщения со странами Азиатско-Тихоокеанского региона, в то время как относительная свобода сообщения РФ со странами Европы и ПК с центральной РФ сохранялась на всём протяжении пандемии.

Рисунок 1. Филогенетический анализ 1055 полных нуклеотидных последовательностей SARS-CoV-2, выявленных в Приморском крае (2020–2023 гг.)



Также в ПК доля зарегистрированных случаев COVID-19, этиологическим фактором которых являлись XBB.1.9.2 (5 %) и XBB.1.16 «Арктур» (3 %), была сопоставима с таковыми в Республике Корея (РК) (XBB.1.9.2 – 7 %), и в Японии (XBB.1.16 – 12 %) (рис. 3), в отличие от среднероссийских значений (XBB.1.9.2 – 2 %, XBB.1.16 – 1 %) [9-11]. Эти данные позволяют предполагать возможное участие геновариантов возбудителя, циркулирующих в сопредельных странах Азиатско-Тихоокеанского региона, в формировании генетического ландшафта SARS-CoV-2 в ПК на заключительном этапе пандемии.

Рисунок 2. Заболеваемость COVID-19 и генетическое разнообразие SARS-CoV-2 на территории Приморского края (2020-2023 гг.). Цветом обозначены: B.1.1 + B.1.1.x; B.1.617.2.x; BA.1.x; BA.2.x; BA.5.x; XBB.x

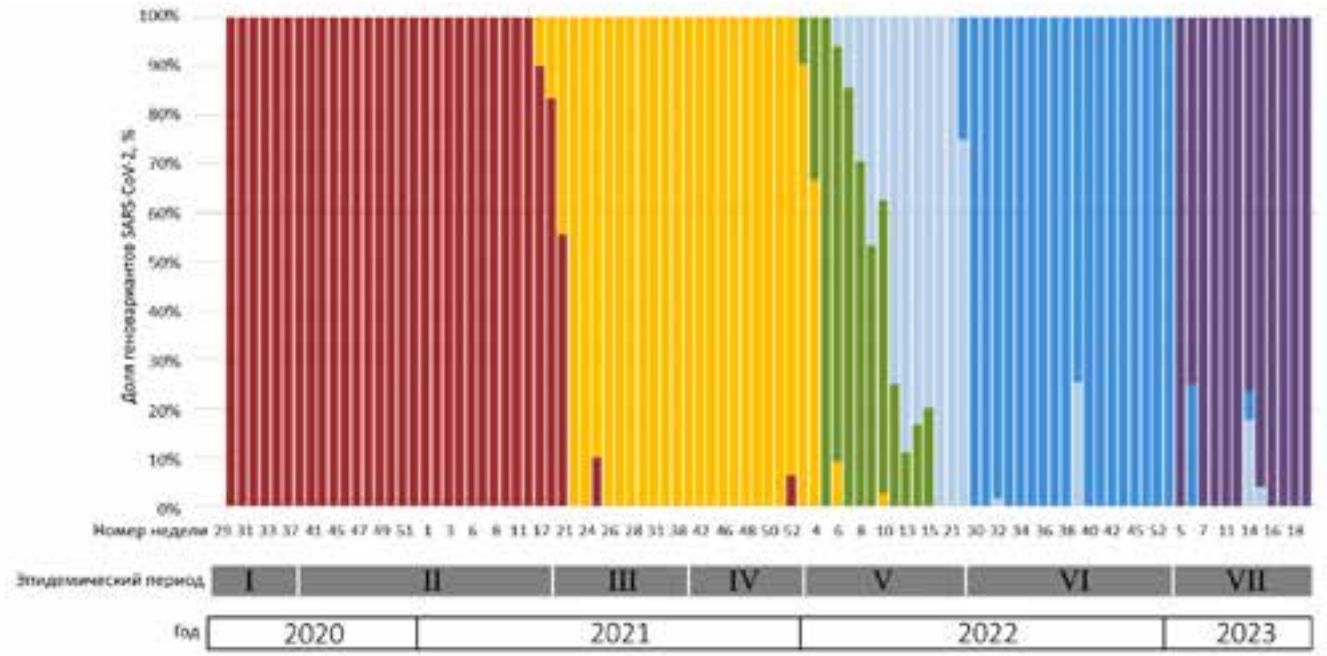
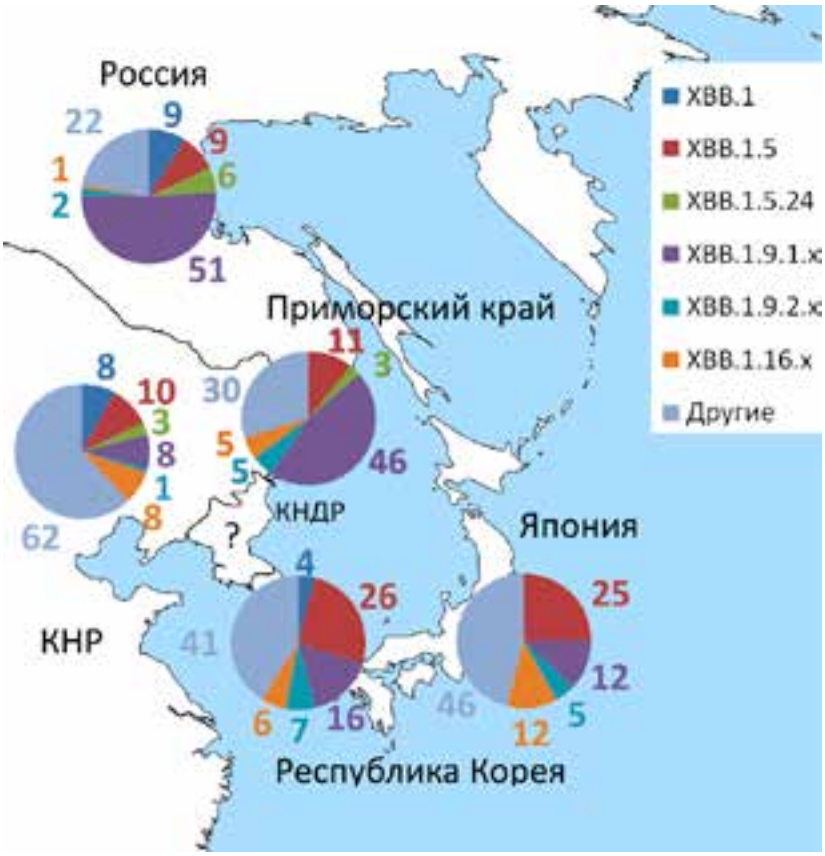


Таблица 2. Распределение геновариантов вируса SARS-CoV-2 по периодам пандемии COVID-19 на территории Приморского края и Российской Федерации в целом (по данным [8]) (2020-2023 гг.)

Период	Территория	Число образцов	Геновариант, % /							
			Ухань	Альфа	Дельта	Омикрон				
			B.1.1 + B.1.1.x	B.1.1.7.x	B.1.617.2.x	BA.1.x	BA.2.x	BA.5.x	XBB.x	Не встречавшиеся в ПК
I	ПК	23	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	РФ	1701	65,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	34,7
II	ПК	201	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	РФ	7417	55,0	7,2	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	36,2
III	ПК	30	3,3	0,0	96,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	РФ	10602	5,1	2,5	89,6	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8
IV	ПК	46	2,2	0,0	97,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	РФ	23315	0,1	0,0	93,5	6,1	0,0	0,0	0,0	0,3
V	ПК	368	0,0	0,0	33,4	48,9	17,7	0,0	0,0	0,0
	РФ	24416	0,1	0,0	11,4	38,9	42,5	6,2	0,0	0,9
VI	ПК	201	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	98,0	0,0	0,0
	РФ	28300	0,0	0,0	0,0	2,1	11,4	85,7	0,7	0,1
VII	ПК	130	0,0	0,0	0,9	0,0	2,7	1,1	96,2	0,0
	РФ	4928	0,0	0,0	0,0	1,5	0,3	35,9	62,3	0,0

Рисунок 3. Генетическое разнообразие SARS-CoV-2 в Приморском крае Российской Федерации в целом и сопредельных странах Восточной Азии накануне официального окончания пандемии 05 мая 2023 г. (цифры при секторах круговых диаграмм соответствуют процентной доле данного геновариантa, по данным GISAID)



Обсуждение

Введение ограничительных мер в марте-апреле 2020 г. практически прекратило перемещение людей между ПК и сопредельными государствами (КНР, РК, Японией), в результате чего динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 в регионе объяснялась исключительно внутрироссийской миграцией.

Однако, с середины 2022 г. началось постепенное смягчение режима перемещения с сопредельными странами, что не могло не сказаться на разнообразии геновариантов «Омикрона», циркулирующих в ПК. Так, в крае к концу апреля – началу мая 2023 г. доля вариантов XBB.1.9.2 и XBB.1.16 «Арктур» была несколько выше, чем в РФ. В то же время, доля варианта XBB.1.9.2 была наиболее велика в РК, а варианта XBB.1.16 – в Японии (рис. 4). Эти данные позволяют предполагать определённое участие сопредельных стран АТР в формировании генетического ландшафта SARS-CoV-2 в ПК на заключительном этапе пандемии.

Таким образом, уникальность формирования генотипического портрета SARS-CoV-2 на территории ПК в период пандемии COVID-19 заключается в возможности завоза вируса как из европейской части РФ, так и из стран Восточной Азии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г. и др. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. – 2020. – №10(2). – С. 221–246.
2. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В. и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID–19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. – М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. – 71 с.
3. Щелканов М.Ю. Этиология COVID-19. В кн.: COVID-19: от этиологии до вакцинопрофилактики. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР–Медиа, 2023. – С. 11–53.
4. Шестопалов А.М., Кононова Ю.В., Гаджиев А.А. и др. Биоразнообразие и эпидемический потенциал коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) рукокрылых // Юг России: экология, развитие. – 2020. – №15(2). – С. 17–34.
5. Gonzalez-Recio O., Gutierrez-Rivas M., Peiro-Pastor R., et al. Sequencing of SARS-CoV-2 genome using different nanopore chemistries // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2021. – №105(8). – С. 3225–3234.
6. Brejova B., Borsova K., Hodorova V., et al. Nanopore sequencing of SARS-CoV-2: Comparison of short and long PCR-tiling amplicon protocols // PLoS One. – 2021. – №16(10).
7. Felsenstein J. Inferring phylogenies. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates Publ. – 2003. – 664 с.
8. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф. и др. COVID–19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: Динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – №99(4). – С. 381–396.
9. Yamasoba D., Uriu K., Plianchaisuk A., et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 omicron XBB.1.16 variant. Lancet Infectious Diseases. – 2023. – №23(6). – С. 655–656.
10. WHO. XBB.1.16 updated risk assessment, 05 June 2023. URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/05062023xbb.1.16.pdf?sfvrsn=f1845468_3
11. Lee D.W., Kim J.M., Park A.K., et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 Omicron variants in the Republic of Korea // Scientific Reports. – 2022. – №12(1). – С. 22414.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ И TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ COVID-19

А.И. Болгова, О.Н. Лесина, Н.И. Баранова, Л.А. Ащина

ПИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза

Пандемия COVID-19 в связи с быстрым распространением привела к беспрецедентной по своим масштабам глобальной катастрофе, унесшей миллионы жизней [1]. Известно, что воздействие вируса SARS-CoV-2 на человека различается большим разнообразием реакций со стороны иммунной системы и проявляется от бессимптомных форм до синдрома полиорганной недостаточности и летального исхода [2, 3]. Иммунный ответ пациентов, заболевших COVID-19, обусловлен состоянием врождённого и адаптивного иммунитета и, как следствие, проявляется от лёгкого до тяжёлого течения вплоть до летального исхода [4]. Существующие в настоящий момент публикации свидетельствуют о дефектах, прежде всего, в системе врождённого иммунитета [5]. Недавние исследования показали, что SARS-CoV-2 не только проникает в клетки через ACE2, но также связывается с отдельными TLR и запускает высвобождение ряда провоспалительных факторов [6]. SARS-CoV-2 в основном активирует TLR2, TLR3, TLR4, TLR7 / 8 и TLR9 и индуцирует соответствующие нижестоящие пути иммунного ответа. Чрезмерное накопление провоспалительных цитокинов вызывает иммунное повреждение и органную недостаточность. В тяжелых случаях инфекции SARS-CoV-2 синдром высвобождения цитокинов является важным отличительным признаком [4, 6]. Было показано, что дефект цитокинов у больных COVID-19 в основном определяется избыточной продукцией провоспалительных цитокинов, что в конечном итоге приводит к эндотелиальной дисфункции, вызывающей повреждение жизненно важных органов, особенно легких [7, 8].

Генетический состав хозяина играет важную роль при соматических и инфекционных заболеваниях и, вероятно, также влияет на заболеваемость COVID-19 и смертность. Все большее признание получает тот факт, что гены, особенно те, которые регулируют иммунный ответ хозяина, могут обусловливать дифференциальную уязвимость и влиять на исход инфекции [9]. Важными генетическими факторами хозяина являются не только гены, кодирующие интерлейкины, но и гены, участвующие в синтезе рецепторов распознавания образов (PRR), с помощью которых осуществляется проникновение вируса в клетку [10, 11].

В связи с этим важно выявить гены, которые могут помочь в прогнозировании клинического исхода и летальности от COVID-19 и, следовательно, позволят проводить профилактические мероприятия и оптимизировать терапию у лиц с повышенным риском развития тяжелых форм заболевания.

Цель исследования: изучение полиморфных вариантов генов IL-1β (T-31C), TNF-α (G-308A), IL-10 (G-1082A), IL-17(G-197A), IL-4 (C-589T), TLR3 (rs3775291) и TLR9(rs352140) у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 142 пациента с COVID-19 в возрасте от 32 до 68 лет (65 мужчин и 77 женщин), которые получили лечение в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» с ноября 2021 г. по март 2022 г. Средний возраст больных составил 50±18 года. Постановку этиологического диагноза проводили в соответствии с положительным результатом лабораторного исследования мазка из носа и ротоглотки на наличие РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции. Всем больным проводилось стандартное лабораторное и инструментальное исследование в соответствии с актуальной версией временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Изучение показателей концентрации интерлейкинов полиморфизмов генов было проведено в Центральной научно-исследовательской лаборатории Пензенского института усовершенствования врачей – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Концентрацию интерлейкинов в супернатантах определяли методом ИФА с помощью тест-систем (Вектор-Бест, Россия). Этап экстракции нуклеиновых кислот осуществляли на процессоре магнитных частиц KingFisherFlex (ThermoFisherScientific, США). Этап амплификации проводили тест-системами «РеалБест РНК SARS-COV-2» (Вектор-Бест, Россия). Детекция и учёт результатов выполнены на термоциклере для амплификации нуклеиновых кислот С1000 Touch с реакционным оптическим модулем CFX 96 (Bio-Rad, США). Статистическую обработку полученных данных была проведена с помощью программ STATISTICA 12.0 (США). Для оценки различия групп по качественному признаку использован критерий χ^2 с поправкой Yates, а при нарушении условий его применимости – двусторонний критерий Фишера (PF). Различие групп считали статистически значимым при $p< 0,05$.

Результаты. Больные с COVID-19 были разделены на три группы по степени тяжести: 1 группа - 63 (44%) человека с легкой степенью тяжести; 2 группа – 39 (27%) больных со средней степенью тяжести; 3 группа- 40 (28%) пациентов с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести заболевания. Степень тяжести COVID-19 определялась в соответствии с актуальной версией временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» с учетом выраженности и продолжительности лихорадки, степени дыхательной недостаточности, объема поражения легких, выраженности воспалительных изменений по лабораторным показателям. Данные по исследованию объема поражения легких при различной степени тяжести COVID-19 представлены в таблице 1.

Таблица 1. Объем поражения легких при различной степени тяжести COVID-19 (по данным КТ)

Параметры	**Варианты**	**Группа 1**		**Группа 2**		**Группа 3**	
		абс	%	**абс**	%	**абс**	%
КТ	0+без поражения	80	80,8%	0	0,0%	0	0,0%
	1	19	19,2%	26	47,3%	0	0,0%
	2	0	0,0%	29	52,7%	21	46,7%
	3	0	0,0%	0	0,0%	17	37,8%
	4	0	0,0%	0	0,0%	7	15,6%

У пациентов с различной степенью тяжести заболевания были изучены показатели интерлейкинов (IL-1β, TNF-α, IL-10, IL-17, IL-4). Анализ, проведенный с помощью коэффициента Спирмена R, позволил выявить достоверную корреляционную зависимость ($p< 0,05$) между рядом исследуемых параметров. Выявлена взаимосвязь между степенью поражения легких, тяжестью и исходом заболевания и уровнем ИЛ4, ИЛ-17, ФНО-α и TLR9 (Таблица 2).

Таблица 2. Взаимосвязь клинических (объем поражения легких, тяжесть и исход заболевания) и лабораторных показателей (ИЛ4, ИЛ17, ФНО-α, TLR9) у пациентов с COVID-19

Сопоставляемые параметры	Число набл.	Спирмена R	p-уров.
Все группы			
КТ & ИЛ4 (C589T)	142	-0,2883	0,0005
Исход & ИЛ17 (G197A)	95	0,2125	0,0387
TLR9 (rs352140) & ИЛ4 (C589T)	116	-0,4461	0,0000
3 группа			
КТ & Тяжесть	45	0,6847	0,0000
КТ & TLR9 (rs352140)	32	0,3967	0,0246
КТ & ИЛ4 (C589T)	40	-0,4817	0,0016
Тяжесть & ИЛ4 (C589T)	40	-0,5931	0,0001
Исход &ФНО-α (G308A)	29	0,4114	0,0266

В результате принято решение исследовать генетические полиморфизмы наиболее значимых интерлейкинов и Toll-like рецепторов.

Проведен сравнительный анализ по частоте встречаемости различных генотипов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 между группами (Таблица 3).

Таблица 3. Распределение полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания

Полиморфизм	Генотип	Пациенты с COVID-19			p_1	p_2	p_3
		1 группа (n = 63) абс. (%)	2 группа (n = 39) абс. (%)	3 группа (n = 40) абс. (%)			
TLR3 (rs3775291)	CC	28 (44,4)	21 (53,8)	17(42,5)	0,32	0,38	0,32
	CT	29 (46,0)	14 (35,9)	20(50)	0,21	**0,048**	0,1
	TT	6 (9,5)	4 (10,3)	3 (7,5)	0,1	**0,045**	**0,046**
TLR9 (rs352140)	CC	12 (19,0)	8(20,5)	7 (17,5)	0,24	0,18	0,32
	CT	41 (65,1)	22 (56,4)	30 (75)	0,09	**0,032**	**0,047**
	TT	10 (15,8)	9 (23,1)	3 (7,5)	0,12	**0,01**	**0,042**

Примечание: p_1 - статистические различия 1 и 2 группы больных COVID-19 (p<0,05); p_2 - статистические различия 2 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05). p_3 - статистические различия статистически значимые различия 1 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05).

Выявлено, что в группе больных с легким течениям заболевания генотипы CC и CT полиморфизма гена TLR3 (rs3775291) встречались в равнозначном процентном соотношение, а генотип TT был наиболее редким. В группе больных со средней степенью тяжестью генотип CC встречался в 1,6 раз чаще по сравнению с генотипом CT и в 5 раз чаще по сравнению с генотипом TT. В группе с тяжелым и крайне-тяжелым течением заболевания наиболее часто встречающимся генотипом TLR3 (rs3775291) был CT, а наиболее редким был TT.

Анализ частот генотипов TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 выявил, что в группе больным с легким течениям заболевания наиболее часто встречающийся был генототип CT и превышал в 3 раза встречаемость генотипа CC и в 4 раза генотипа TT. В группе больных со средней степенью тяжестью аналогично пациентам с легким течением заболевания генотип CT встречался в 56,5% случаев, а генотипы CC и TT в равнозначном проценте. В группе с тяжелым и крайне-тяжелым течением заболевания частота встречаемости генотипа CT составила 75%, что превышала частоту встречаемости генотипа CC в 4 раза, а генотипа TT в 12 раз.

Распределение полиморфных вариантов генов IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания представлено в таблице 4.

Таблица 4. Распределение полиморфных вариантов генов IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания

Параметры	Варианты	1 группа		2 группа		3 группа		p_1	p_2	p_3
		абс	%	абс	%	абс	%			
ИЛ4 (C589T)	CC	38	60,3	25	64,1	23	57,5	0,674	0,646	0,838
	CT	21	33,3	12	30,8	14	35,0	0,830	0,811	1,000
	TT	4	6,3	2	5,1	3	7,5	1,000	1,000	1,000
ИЛ10 (G1082A)	AA	25	39,7	7	17,9	13	32,5	**0,028**	0,196	0,532
	GA	30	47,6	25	64,1	21	52,5	0,152	0,363	0,688
	GG	8	12,7	7	17,9	6	15,0	0,567	0,769	0,773
ИЛ1β (T31C)	CC	7	11,1	4	10,3	5	12,5	1,000	1,000	1,000
	TC	31	49,2	19	48,7	15	37,5	1,000	0,367	0,310
	TT	25	39,7	16	41,0	20	50,0	1,000	0,500	0,316
ФНОα (G308A)	AA	0	0,0	1	2,6	0	0,0	0,382	0,493	-
	GA	11	17,5	6	15,4	6	15,0	1,000	1,000	0,792
	GG (GGG)	52	82,5	32	82,1	34	85,0	1,000	0,769	0,792
ИЛ17 (G197A)	AA	5	7,9	7	17,9	5	12,8	0,204	0,754	0,500
	GA	30	47,6%	22	56,4%	14	35,9%	0,420	0,111	0,305
	GG	28	44,4%	10	25,6%	20	51,3%	0,062	**0,0354**	0,5446

Примечание: p_1 - статистические различия 1 и 2 группы больных COVID-19 (p<0,05); p_2 - статистические различия 2 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05). p_3 - статистические различия статистически значимые различия 1 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05).

Проведенный анализ выявил достоверные различия между пациентами 2 и 3 групп в отношении гомозиготного полиморфизма GG ИЛ17 (G197A), который встречался чаще у пациентов с тяжелым течением заболевания.

Выводы

1. Выявлена достоверная прямая корреляционная зависимость (p<0,05) между уровнями ИЛ-17, ИЛ-4, ФНО-α и неблагоприятным исходом заболевания. При исследовании генетических полиморфизмов только для гена ИЛ17 (G197A) достоверно определяется высокая частота гомозиготного полиморфизма GG (p< 0,05) у пациентов с тяжелым течением заболевания.
2. Сравнительный анализ генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести выявил более высокую частоту встречаемости генотипа CT и наиболее низкую частоту встречаемости генотипа TT гена TLR9 (rs352140) и гена TLR3 (rs3775291) у больных с тяжелым течением заболевания, что может играть ключевую роль в развитии осложнений и летальных исходов.
3. Полученные данные могут быть использованы при оценке риска тяжелого течения COVID-19.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Малинникова Е.Ю. Новая коронавирусная инфекция. Сегодняшний взгляд на пандемию XXI века// Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. - Том 9, № 2. – С.18-32.

2 COVID-19 and kidney injury: pathophysiology and molecular mechanisms /Ahmadian E, Khatibi S.M., Soofiyani S.R., Abediazar S. et al.// Rev Med Virol. - 2020; e2176.

3 Natural history of asymptomatic SARS-CoV-2 infection /Sakurai A, Sasaki T, Kato S, Hayashi M. N// Engl J Med. – 2020 – Vol. 383(3). P. 885–886.

4 Смирнов В.С., Тотолян А.А. Врождённый иммунитет при коронавирусной инфекции// Инфекция и иммунитет.- 2020. - 10(2). – С.259–268.

5 Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Антивирусная система врождённого иммунитета: патогенез и лечение COVID-19// Вестник РГМУ, 2020. - №5. – С.5–14.

6 The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews /Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I. et al.// BMJ. - 2021, n71.

7 LuQ., ZhuZ., TanC., ZhouH. Changes of serum IL-10, IL-1β, IL-6, MCP1, TNFα, IP-10 and IL4- in COVID-19 patients // International Journal of Clinical Practice. - 2021; 75(9)

8 Schooling C.M., Li M., Yeung S.L. Interleukin-18 and COVID-19 // Epidemiol Infect. - 2021; (150): 14.

9 Kirtipal N., Bharadwaj S. Interleukin 6 polymorphisms as an indicator of COVID-19 severity in humans // J.biomol. Struct. Dyn. - 2020– Vol. 39(12). P. 4563-4565.

10 Khanmohammadi, S.; Rezaei, N. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19 // J. Med. Virol. - 2021– Vol. 93(5). P. 2735–2739.

11 Kawai, T.; Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors// Nat. Immunol. - 2010– Vol. 11. P. 373–384.

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ТРОМБОВ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ИНСТРУМЕНТОВ И РЕФЕРЕНСНЫХ БАЗ ДАННЫХ

И.И. Гапонова, В.И. Корчагин, Н.Г. Куликова, К.О. Миронов

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора

Сердечно-сосудистые заболевания представляют существенную проблему для здравоохранения во всем мире. Одна из категорий данных заболеваний – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК). Поскольку ОНМК являются мультифакторными заболеваниями, необходимо оценивать спектр причин, которые влияют на предрасположенность к их развитию. Наиболее частыми причинами возникновения ОНМК являются атеротромбоз и кардиоэмболия. В ряде исследований описана роль инфекционных заболеваний в развитии тромбовоспаления. Показано, что коронавирусная инфекция может являться катализатором этого процесса [1, 2]. Согласно литературным данных микроорганизмы также могут быть фактором риска, влияющим на процесс тромбообразования. С помощью молекулярно-биологических методов в крови могут выявляться фрагменты ДНК, которые принадлежат микробиоте, колонизирующей слизистые кишечника и ротовой полости [3]. Опубликованы исследования, свидетельствующие о наличии фрагментов ДНК микроорганизмов в крови людей, имеющих сердечно-сосудистые заболевания [4, 5]. Таким образом, вовлечение в тромбообразование бактериальной ДНК до сих пор является дискуссионным вопросом и требует дополнительного изучения. Одним из распространенных молекулярно-биологических методов исследования нуклеиновых кислот (НК) является секвенирование по Сэнгеру, применяемое для классификации микроорганизмов на основании анализа последовательностей 16S рРНК. Существующие биоинформатические инструменты, используя различные алгоритмы сравнения и базы данных, позволяют достаточно точно идентифицировать таксономический уровень микроорганизмов на основании секвенированных последовательностей.

Целью исследования являлась характеристика фрагментов микробной ДНК, выделенной из тромбов, а также анализ возможностей классификаторов для определения её таксономической принадлежности.

Материалы и методы

В исследование включены 57 образцов тромбов, полученные при проведении реперфузионной терапии у пациентов с ишемическим инсультом. В группу сравнения вошли 12 образцов крови от пациентов не имеющих инфекционных заболеваний, на момент исследования [6]. Для выделения ДНК использовался набор реагентов «РИБО-преп» с добавлением 12 мкл

протеиназы на этапе лизиса. Полимеразная цепная реакция с использованием праймеров, специфичных к фрагменту 16S рРНК, длиной около 900 пар оснований, проводилась на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Для определения нуклеотидной последовательности продуктов амплификации использовалось секвенирование по Сэнгеру с применением реагентов и оборудования производства фирмы «Applied Biosystems» (США). Анализ структуры полученных хроматограмм проводился с помощью программы BCV (The Base Calling with Vocabulary) [7], позволяющей предсказывать в смешанных данных нуклеотидные последовательности и объединять их в кластеры. Для таксономической классификации кластеров использовали две программы: RDP Classifier 2.13 [8] и Mothur [10]. Оба классификатора используют наивный метод байесовской классификации, позволяющий быстро сравнивать между собой данные и присваивать им категорию. Основное различие между ними заключается в использовании разных баз референсных последовательностей для анализа. RDP Classifier использует для анализа базу данных The Ribosomal RNA Operon Copy Number Database (rrnDB) [9], созданную в 2001 году, а Mothur использует интегрированную базу данных ITGDB [11], созданную в 2022 году, путем объединения данных баз RDP, SILVA и Greengenes. Статистическую обработку результатов осуществляли в среде R (версия 4.3.1) [12] с использованием встроенных функций расчета критериев χ^2 Пирсона и Фишера. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Результаты тестов считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Исследование проводилось в рамках одной из тем государственного задания «Изучение генетической предрасположенности к мультифакторным заболеваниям» (рег. № АААА-А21-121011890130-7).

Результаты

Таксономическая характеристика образцов ДНК, выделенной из крови и тромбов

В образцах крови чаще всего встречались классы *Actinobacteria* и *Alphaproteobacteria*, каждый встречался у 8 образцов. В образцах тромбов, согласно классификатору RDP Classifier, чаще всего встречались классы *Bacilli* (в 19 образцах) и *Actinobacteria* (в 18 образцах). Результаты Mothur для наиболее часто встречаемых в образцах последовательностей были схожими, так класс *Bacilli* согласно анализу классификатора, был выявлен в 20 образцах, *Actinobacteria* также выявлен в 18 образцах. Разнообразие классов выше в образцах тромбов, RDP Classifier и Mothur выявили 11 классов микроорганизмов для этой группы. В образцах крови оба классификатора выявили 5 классов бактерий, при этом Mothur не обнаружил в образцах крови *Betaproteobacteria,* но обнаруживал *Gammaproteobacteria*. Дискордантные результаты для двух классификаторов отмечены у нескольких образцов тромбов. RDP Classifier не выявляет *Coriobacteriia* и *Spirochaetia,* в свою очередь Mothur не определяет в образцах классы *Betaproteobacteria* и

Fusobacteriia. Однако статистически значимых отличий между результатами двух классификаторов не обнаружено.

Таблица 1. Характеристика образцов с установленной таксономической принадлежностью не ниже класса

Классификатор	Класс	Группа, n		Точный тест Фишера, *p*
		Кровь, 11	Тромбы, 31	
RDP Classifier	*Actinobacteria*	8	18	**0,0032**
	Alphaproteobacteria	8	2	
	Bacilli	2	19	
	Bacteroidia	-	1	
	Betaproteobacteria	2	1	
	Clostridia	2	6	
	Erysipelotrichia	-	2	
	Fusobacteriia	-	1	
	Gammaproteobacteria	-	1	
Mothur	*Actinobacteria*	8	18	**0,014**
	Alphaproteobacteria	8	3	
	Bacilli	2	20	
	Bacteroidia	-	2	
	Clostridia	2	4	
	Coriobacteriia	-	1	
	Erysipelotrichia	-	2	
	Gammaproteobacteria	1	2	
	Spirochaetia	-	1	
Точный тест Фишера, *p*		0,833	0,986	

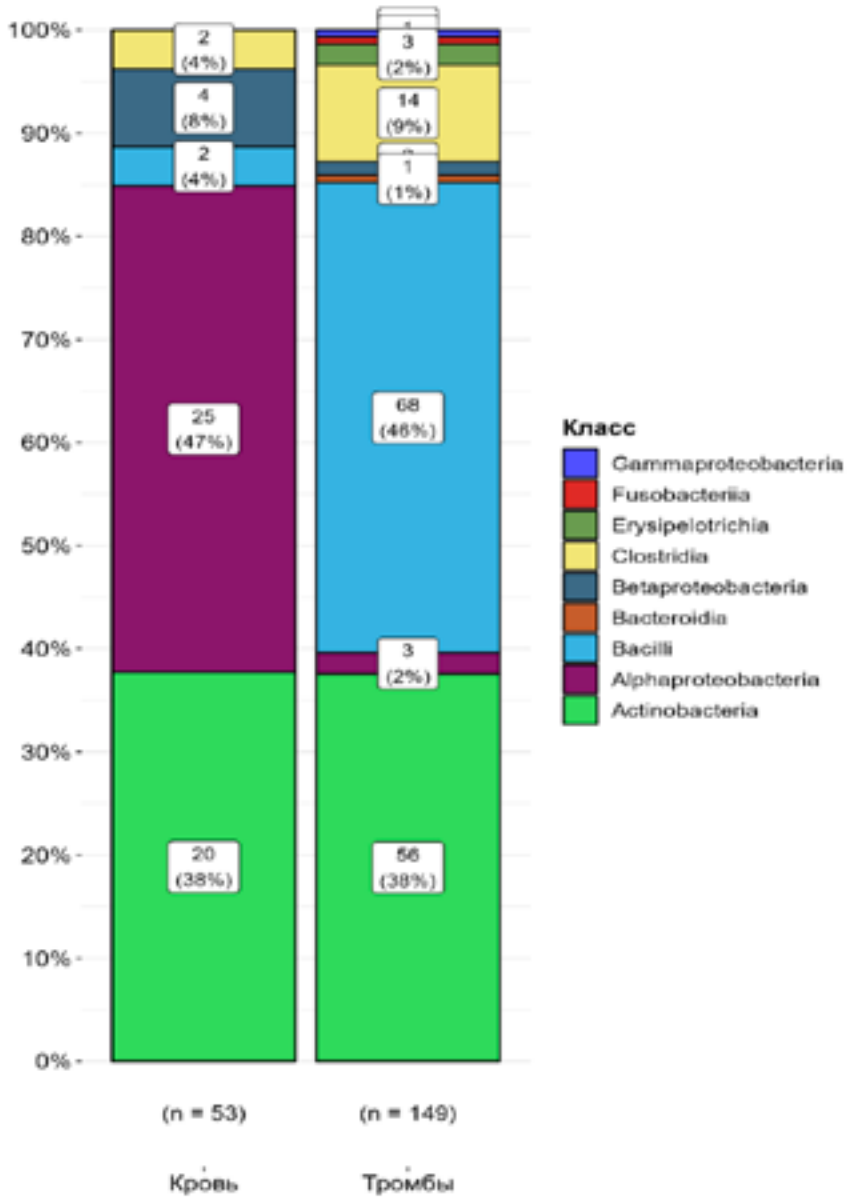
Сравнение результатов двух классификаторов с учетом количества кластеров

Результаты анализа количества кластеров нуклеотидных последовательностей, встречающихся в хроматограммах, и их таксономической принадлежности также свидетельствуют о том, что разнообразие классов бактерий выше в образцах, выделенных из тромбов.

На рисунке 1 представлено соотношение кластеров разных классов, выявленных в образцах крови и тромбов с использованием классификатора RDP Classifier. Наибольшее

количество кластеров, выявленных в образцах крови принадлежит классу *Alphaproteobacteria.* Количество кластеров, принадлежащих классу *Actinobacteria* так же велико и сопоставимо с *Alphaproteobacteria.* Небольшое количество кластеров было отнесено к классам *Clostridia, Betaproteobacteria* и *Bacilli.*

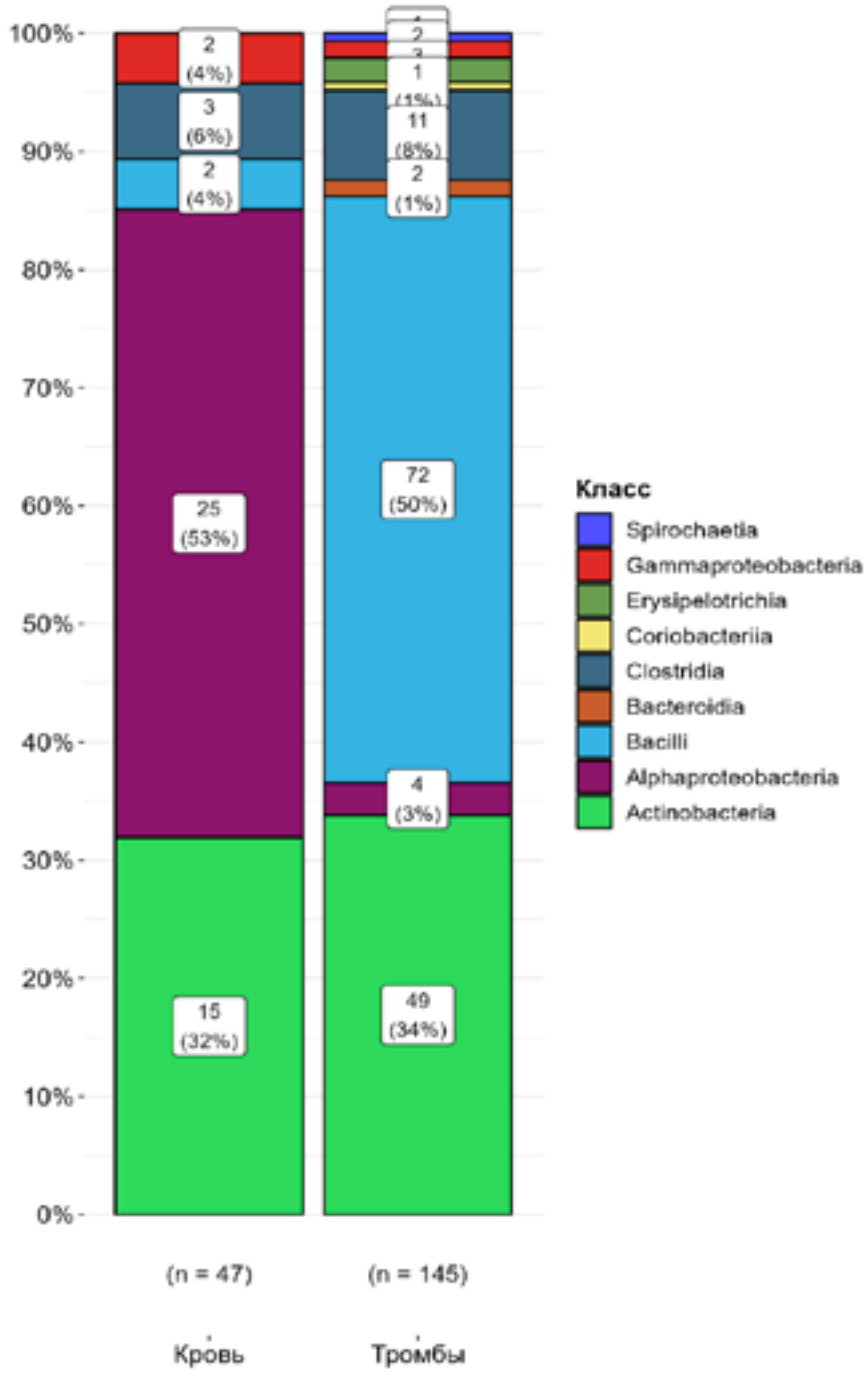
Рисунок 1. Соотношение числа кластеров разных классов, выявленных в образцах крови и тромбов классификатором RDP Classifier



Для образцов ДНК, выявленной в тромбах, наибольшее количество кластеров принадлежало к классу *Bacilli.* Вторым по количеству кластеров был класс *Actinobacteria*. Еще одним хорошо дифференцируемым классом для группы образцов тромбов был *Clostridia.* Оставшаяся часть кластеров принадлежала классам *Gammaproteobacteria, Fusobacteriia, Erysipelotrichia, Bacteroidia* и *Alphaproteobacteria.* Общее количество кластеров, выявленных при

анализе образцов ДНК, выделенных из крови, составило 53. Количество идентифицированных последовательностей, выявленных при анализе ДНК, выделенной из тромбов было существенно больше и составило 149 кластеров.

Рисунок 2. Соотношение числа кластеров разных классов, выявленных в образцах крови и тромбов классификатором Mothur

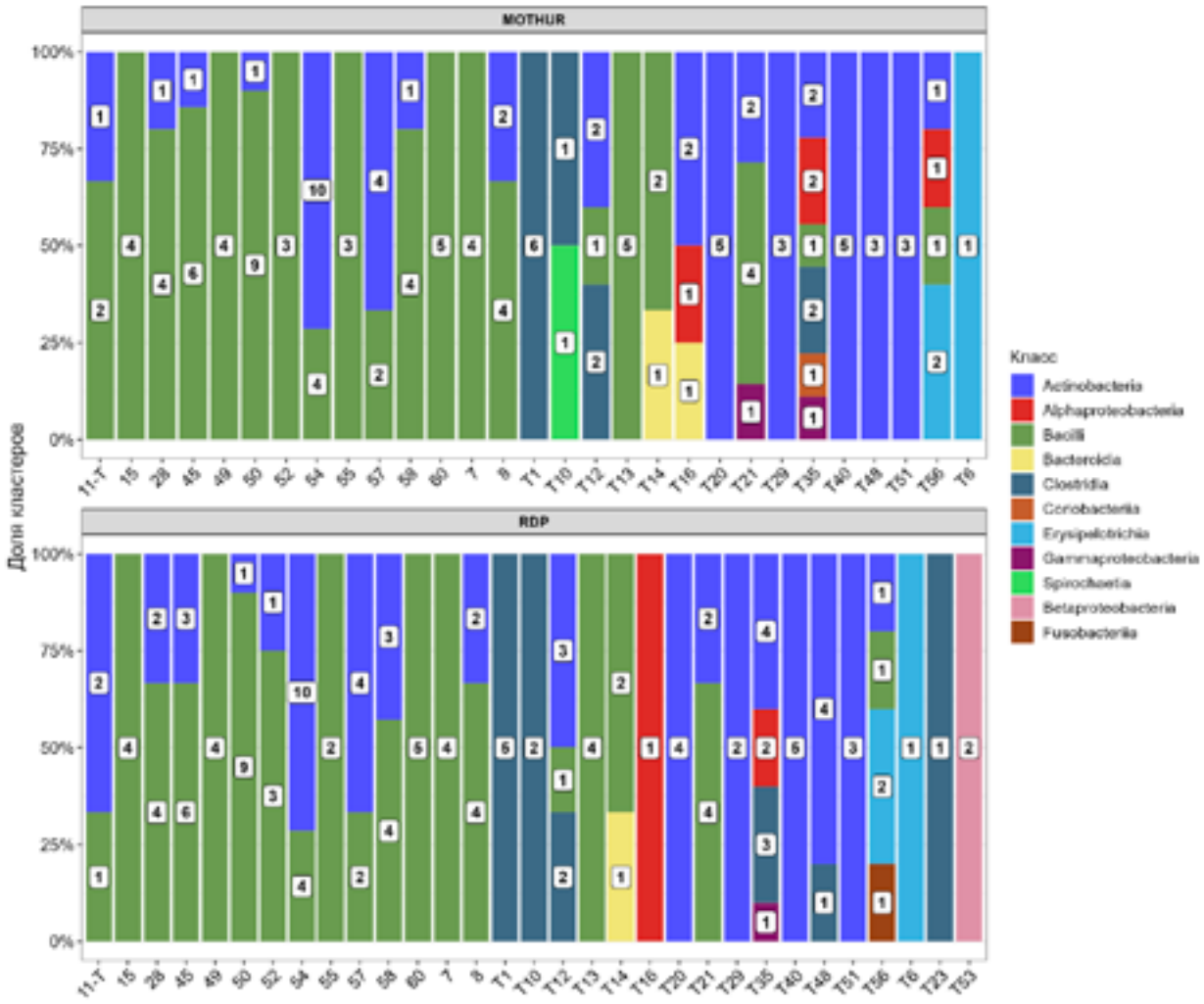


Сопоставимые результаты были получены при использовании классификатора Mothur. Полученные данные также свидетельствуют, что наибольшее количество кластеров, выявленных в образцах ДНК, полученных из крови, принадлежит к классу *Alphaproteobacteria.* Меньшее

количество относится к классу *Actinobacteria.* Незначительное количество кластеров представлено классами *Gammaproteobacteria, Clostridia* и *Bacilli.*

Наибольшее количество кластеров в образцах ДНК, выделенной из тромбов, отнесено к классу *Bacilli.* Меньшее количество относилось к *Actinobacteria.* Третьим по количеству кластеров был класс *Clostridia.* Также было выявлено 4 кластера, относящихся к *Alphaproteobacteria.* Классами, представленными одним или двумя кластерами, были *Spirochaetia, Gammaproteobacteria, Erysipelotrichia*, *Coriobacteriia* и *Bacteroidia.* Для образцов ДНК, выделенных из крови, количество кластеров составило 47. Для образцов ДНК, выделенных из тромбов, количество кластеров также было больше и составило 145. В целом для двух классификаторов получены схожие результаты, дискордант был выявлен при анализе Mothur – один кластер был отнесен к классу *Spirochaetia.*

Рисунок 3. Соотношение числа кластеров с определенным классом для RDP Classifier и Mothur выявленных в образцах тромбов



При сравнении результатов двух классификаторов по кластерам и их классам для каждого образца тромбов также выявляются дискорданты. На рисунке 3 RDP Classifier и Mothur схожим образом классифицировали 22 образца из 31. Отличия в таксономической принадлежности

наблюдались у 7 образцов. В образце 52 RDP Classifier выделил 2 класса – *Bacilli* и *Actinobacteria,* тогда как Mothur выявил только класс *Bacilli.* Образец T10, согласно классификатору RDP Classifier, содержит два кластера, относящихся к классу *Clostridia*, в то же время, Mothur определил один из кластеров в класс *Spirochaetia.* В образце T16 RDP Classifier смог классифицировать только один кластер как *Alphaproteobacteria,* Mothur позволил классифицировать ещё 2 кластера как *Actinobacteria* и *Bacteroidia.* Образец T21 согласно RDP Classifier содержит 6 кластеров, отнесённых к *Bacilli* (4 кластера) и *Actinobacteria* (2 кластера), Mothur также выявил в этом образце один кластер отнесённый к *Gammaproteobacteria*. В образце T56, содержащем 5 кластеров, оба классификатора определили принадлежность 4 кластеров к трём классам – *Erysipelotrichia* (2), *Bacilli* (1) и *Actinobacteria* (1). Дополнительно, RDP Classifier отнёс один кластер к классу *Fusobacteriia*, а Mothur – к *Alphaproteobacteria*, доведя общее количество различных классов в одном образце до четырёх. В образце T35 оба классификатора выявили 4 класса бактерий – *Actinobacteria* (4/2 кластера), *Alphaproteobacteria* (2), *Clostridia* (3/2 кластера) и *Gammaproteobacteria* (1). Mothur дополнительно выявил по одному кластеру *Bacilli* и *Coriobacteriia*. Таким образом, в образце T35 с помощью классификатора Mothur удалось определить последовательности ДНК 6 классов бактерий, в то время, как в среднем по результатам обеих классификаторов в каждом образце содержится не более двух таксонов. Кластеры в образцах T23 и T53 смог классифицировать только RDP Classifier и определил их как *Clostridia* и *Betaproteobacteria*.

Обсуждение

Наиболее часто встречаемыми классами микроорганизмов, полученных из образцов крови и тромбов являются *Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Bacilli* и *Clostridia.* Доля образцов крови, в которой были выявлен класс *Actinobacteria* составила 72,7%, доля образцов, в которых выявлен класс *Alphaproteobacteria* также составила 72,7%. Доля образцов, в которых выявлен класс *Bacilli,* была меньше и составила 18,1%. Наибольшая доля образцов тромбов принадлежала к классу *Bacilli* и составила 61,2%, доля образцов с выявленным классом *Actinobacteria* составила 58%. Также в образцах тромбов был выявлен класс *Clostridia,* их доля составила 19,3%.

Оба классификатора демонстрируют схожие результаты, что подтверждается статистическими расчётами. Однако, некоторые кластеры в образцах они классифицируют по-разному. Mothur, в целом, выявляет больше классов микроорганизмов в образцах, чем RDP Classifier. Возможно это обусловлено тем, что Mothur использует более современную интегрированную базу данных, объединяющую базы RDP, SILVA и Greengenes. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, и требуют комплексного подхода к описанию дискордантных результатов [13].

Выявленные таксоны бактерий являются представителями микрофлоры, встречающейся на слизистых оболочках организма. Также следует отметить, что представители класса *Bacilli* и *Clostridia* могут вызывать воспаление кишечника. Дисбиоз и воспалительные процессы в кишечнике, согласно литературным данным, могут играть существенную роль в патогенезе инсульта [14, 15]. Однако для уточнения взаимосвязей между наличием в тромбах фрагментов микробиальной ДНК и ее возможным влиянием на процесс тромбообразования необходимо расширить выборку и провести анализ тромбов другой локализации.

Выводы

1. Разработана методика, включающая в себя различные инструменты исследований и обработки информации, позволяющая выявлять и определять таксономическую принадлежность на уровне класса ДНК, выделенной из образцов крови и тромбов, вызывающих острые нарушения мозгового кровообращения.
2. Наиболее часто встречаемыми классами в образцах крови были *Actinobacteria* и *Alphaproteobacteria*. В образцах тромбов чаще встречались классы *Actinobacteria, Bacilli* и *Clostridia.* Большее таксономическое разнообразие наблюдается в образцах тромбов. Количество выявленных кластеров также больше в образцах тромбов.
3. Оба классификатора позволили получить схожие результаты с относительно небольшими расхождениями, что может быть обусловлено разницей между последовательностями в базах данных и филогенетическими взаимоотношениями между классами микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maruhashi T., Higashi Y. Pathophysiological Association of Endothelial Dysfunction with Fatal Outcome in COVID-19. // International Journal of Molecular Sciences, 2021. – Vol.22. – №10. 5131. doi: 10.3390/ijms22105131.
2. Hernández-Fernández F., Sandoval Valencia H., Barbella-Aponte R.A., Collado-Jiménez R., Ayo-Martín Ó., Barrena C., Molina-Nuevo J.D., García-García J., Lozano-Setién E., Alcahut-Rodriguez C., Martínez-Martín Á., Sánchez-López A., Segura T. Cerebrovascular disease in patients with COVID-19: neuroimaging, histological and clinical description. // Brain, 2020. – Vol.143. – №10. P. – 3089-3103. doi: 10.1093/brain/awaa239.
3. Gosiewski T., Ludwig-Galezowska A.H., Huminska K., Sroka-Oleksiak A., Radkowski P., Salamon D., Wojciechowicz J., Kus-Slowinska M., Bulanda M., Wolkow P.P. Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method - the observation of DNAemia. // European

Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases, 2017. – Vol.36. – №2. – P. 329-336. doi: 10.1007/s10096-016-2805-7.

4. Dinakaran V., Rathinavel A., Pushpanathan M., Sivakumar R., Gunasekaran P., Rajendhran J. Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients: metagenomic profiling of microbiome in the circulation. // PLoS One, 2014. – Vol. 9. – №8. doi: 10.1371/journal.pone.0105221.
5. Ji R., Schwamm L.H., Pervez M.A., Singhal A.B. Ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults: risk factors, diagnostic yield, neuroimaging, and thrombolysis. // JAMA Neurology, 2013. – Vol.70. – №1. – P.51-57. doi: 10.1001/jamaneurol.2013.575.
6. Демина И.А. Клинико-патогенетические особенности новой коронавирусной инфекции у пациентов с артериальной гипертензией: дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук: 3.1.22: защищена 14.10.2022: Демина Ирина Алексеевна – Москва, 2022. – 152 с.
7. Fantin Y.S., Neverov A.D., Favorov A.V., Alvarez-Figueroa M.V., Braslavskaya S.I., Gordukova M.A., Karandashova I.V., Kuleshov K.V., Myznikova A.I., Polishchuk M.S., Reshetov D.A., Voiciehovskaya Y.A., Mironov A.A., Chulanov V.P. Base-calling algorithm with vocabulary (BCV) method for analyzing population sequencing chromatograms. // PLoS One, 2013. – Vol.8. – №1. doi: 10.1371/journal.pone.0054835.
8. Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. // Applied and Environmental Microbiology, 2007. – Vol. 73. – №16. – P. 5261-5267. doi: 10.1128/AEM.00062-07.
9. Stoddard S.F., Smith B.J., Hein R., Roller B.R., Schmidt T.M. rrnDB: improved tools for interpreting rRNA gene abundance in bacteria and archaea and a new foundation for future development. // Nucleic Acids Research, 2015. – Vol. 43. doi: 10.1093/nar/gku1201.
10. Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T. , Hall J.R. , Hartmann M. , Hollister E.B., Lesniewski R. A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B. , Thallinger G.G. , Van Horn D.J., Weber C.F. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. // Applied and Environmental Microbiology, 2009. Vol. – 75. – № 23. doi: https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09.
11. Hsieh Y.P., Hung Y.M., Tsai M.H., Lai L. C., Chuang E.Y. 16S-ITGDB: An Integrated Database for Improving Species Classification of Prokaryotic 16S Ribosomal RNA Sequences. // Frontiers in bioinformatics. 2022. doi: 10.3389/fbinf.2022.905489.
12. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Электронный ресурс]. –2023. –URL: https://www.R-project.org/ (дата обращения 19.07.2023).

13. Odom A.R., Faits T., Castro-Nallar E., Crandall K.A., Johnson W. E. Metagenomic profiling pipelines improve taxonomic classification for 16S amplicon sequencing data. // Scientific Reports, 2023. – Vol. 13. https://doi.org/10.1038/s41598-023-40799-x.
14. Liao Y., Zeng X., Xie X., Liang D., Qiao H., Wang W., Guan M., Huang S., Jing Z., Leng X., Huang L. Bacterial Signatures of Cerebral Thrombi in Large Vessel Occlusion Stroke. // mBio, 2022. – Vol. 13. – № 4. doi: 10.1128/mbio.01085-22.
15. Yamashiro K., Kurita N., Urabe T., Hattori N. Role of the Gut Microbiota in Stroke Pathogenesis and Potential Therapeutic Implications. // Annals of Nutrition and Metabolism, 2021. – Vol. 77. – P. 36–44. doi: 10.1159/000516398.

МикроРНК И ГЕНЫ-МИШЕНИ КАК РЕГУЛЯТОРЫ ИММУННЫХ СИГНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Д.Ю. Гвалдин, И.А. Новикова, Н.Н. Тимошкина, О.И. Кит

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Введение. На сегодняшний день колоректальный рак (КРР) удерживает лидирующие позиции среди злокачественных нозоологий по распространенности (2 место) и числу летальных исходов (3 место) в мире [1]. Тенденции роста КРР актуальны и для России. По данным за 2020 г. темп прироста рака ободочной кишки составил 2,62%, тем прироста рака прямой кишки, ректосигмоидного соединения, ануса - 1,62% [2]. Основные схемы лечения КРР включают хирургическое вмешательство в сочетании с химиорадиотерапией. В последнее время получили развитие имуннотерапевтические подходы, которые позволили добиться длительной и стойкой ремиссии у определенной группы больных с КРР [3]. В первую очередь, успех иммунотерапии зависит от микроокружения опухоли и иммунных процессов, лежащих в основе онкогенеза КРР. Современные методы секвенирования следующего поколения открывают широкие перспективы для изучения экспрессионных профилей микроРНК и соответствующих генов-мишеней не только опухолевых клеток, но и иммунных клеток, стромальных клеток и других внеклеточных компонентов. Изучение данных экспрессионных изменений представляется ключом к пониманию иммунных сигнальных механизмов КРР и необходимым этапом для дальнейшего совершенствования иммунотерапевтических подходов. Целью нашей работы являлось исследование экспрессионных профилей иммунно-ассоциированных микроРНК и генов, иммунных сигнальных механизмов КРР и поиска потенциальных мишеней для терапии больных с данной онкопатологией.

Материал и методы. В исследование вошло 18 человек (медиана возраста — 66 лет) с диагнозом КРР, проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» в 2018-2019. Все опухоли имели статус микросателлитной нестабильности. Материалом послужили 24 образца тотальной РНК: 18 образцов экстрагированы из первичной опухоли, 6 - из нормальной ткани. Выделение тотальной РНК проводили по протоколу изготовителя Trizol (ThermoFisherScientific, США). Исследуемые образцы были подвергнуты секвенированию следующего поколения с использованием наборов AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel (Illumina, США) и TruSeq Small RNA Library Preparation Kits (Illumina, США) в соответствии с протоколом производителя.

Для анализа дифференциальной экспрессии генов и микроРНК использовали пакет «DESeq2» программной вычислительной среды R 4.3.2 [4]. Для последующих аналитических этапов отбирали дифференциально экспрессирующиеся гены и микроРНК, удовлетворяющие двум условиям: $|\log_2 FC| > 1$ и $p < 0,05$. Определение типов иммуных клеток, вносивших вклад в

изменение экспрессии исследуемых микроРНК и генов, осуществляли с использованием пакета «quantiseqr» [5]. Определяли наличие возможных связей микроРНК-мРНК с помощью пакета «miRLAB» и таких статистических методов и методов машинного обучения, как тест ранговой корреляции Спирмена, причинно-следственный анализ (causal inference), регрессионный анализ lasso и elastic-net [6]. В финальную сеть взаимодействий отбирали пары микроРНК-мРНК с помощью пакета «multiMiR» и баз данных miRecords, miRTarBase и TarBase [7]. Для конструирования сети взаимодействий микроРНК-мРНК применяли Cytoscape [8]. Анализ обогащения по функциональной принадлежности проводили с использованием пакета «pathfindR» и баз данных KEGG, Reactome и BioCarta [9]. Поиск мишеней для таргетной терапии основывался на веб-ресурсе canSAR и данных о доступности белковых молекул для потенциальных терапевтических лигандов [10]. Сеть взаимодействий белка-мишени с другими белками и терапевтическими лигандами конструировали при помощи STITCH [11].

Результаты. В ходе исследования обнаружено 28 дифференциально экспрессирующихся микроРНК ($|\log_2 FC| > 1$; $p < 0,05$): 15 микроРНК с повышенной экспрессией и 13 микроРНК с пониженной экспрессией (рис. 1А). Количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) составило 156 ($|\log2FC| > 1$; $p < 0,05$), среди которых 62 гена обладали повышенной экспрессией и 94 гена - пониженной (рис. 1В).

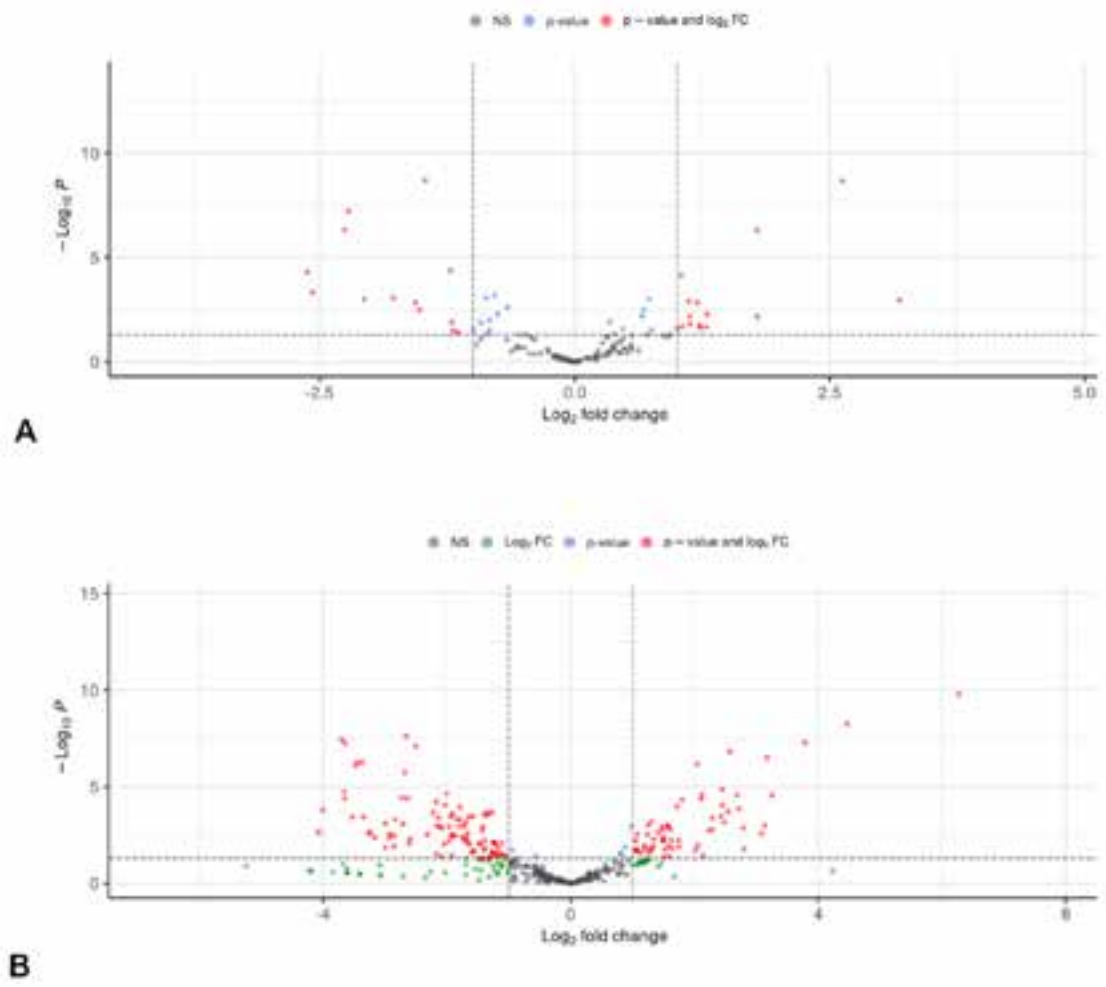


Рис. 1. График рассеивания дифференциально экспрессирующихся (**A**) микроРНК и (**B**) генов. Серым цветом выделены микроРНК и гены со статистически не значимыми изменениями экспрессии ($|Log_2FC| \leq 1$ и $p \geq 0{,}05$); зеленым цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию |Log2FC| > 1, синим цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию $p < 0{,}05$; красным цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет обоим условиям |Log2FC| > 1 и $p < 0{,}05$

Идентификация клеточных популяций, вносивших вклад в изменения экспрессии микроРНК и генов, выявила преимущественно 4 типа иммунных клеток (рис. 2): B-лимфоциты, нейтрофилы, CD8+ Т-лимфоциты и макрофаги M1. Примечательно, что B-лимфоциты превалировали в паре образцов 4C и 84C, а образцы 35C и 52C имели сходные распределение CD8+ Т-лимфоциты и нейтрофилов. Нейтрофилы оказались наиболее распространенным типом клеток и единственной иммуной клеточной популяцией для 10 из 18 опухолевых образцов.

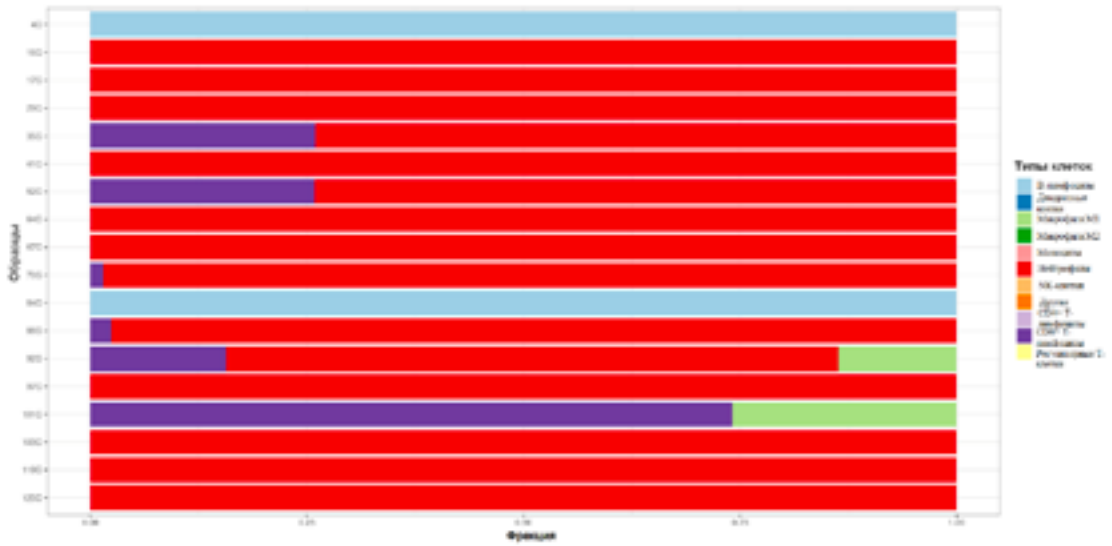


Рис. 2. Распределение иммунных клеточных популяций среди исследуемых опухолевых образцов больных с КРР

Поэтапный анализ наличия возможных микроРНК-мРНК связей позволил отобрать 713 пар, в том числе 114 пар микроРНК-мРНК было идентифицировано с помощью корреляционного анализа, 482 пары – с помощью causal inference, 19 пар - по результатам регрессионного анализа elastic-net, 98 пар - по результатам регрессионного анализа lasso. При фильтрации по валидированным взаимодействиям количество пар сократилось до 24. На их основании была сконструирована сеть взаимодействий микроРНК-мРНК (рис. 3).

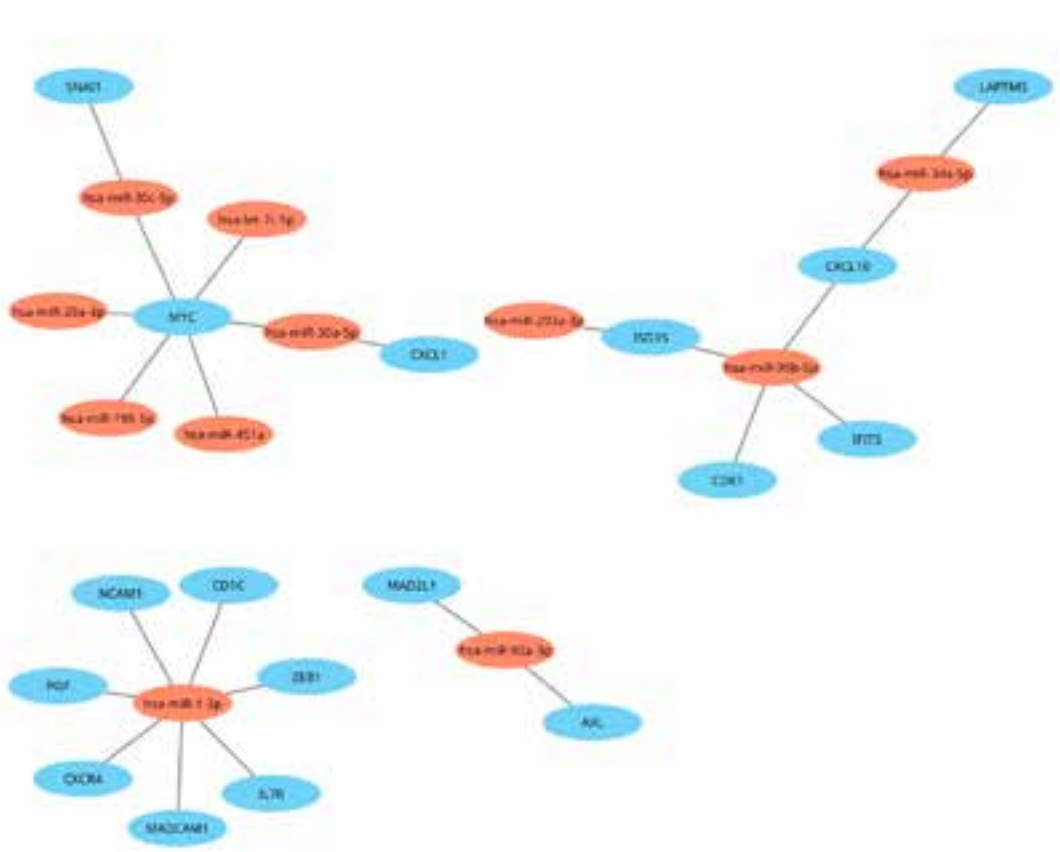


Рис. 3. Сеть взаимодействий микроРНК-мРНК

Обнаруженные пары микроРНК-мРНК участвовали в регуляции следующих сигнальных механизмов, описанных в базе данных KEGG (рис. 4A): сигнальный путь ИЛ-17 (hsa04657), прогестерон-опосредованное созревание ооцитов (hsa04914), взаимодействие вирусного белка с цитокином и цитокиновым рецептором (hsa04061), сигнальный путь TNF (hsa04668), мейоз ооцитов (hsa04114), клеточный цикл (hsa04110), сигнальный путь хемокинов (hsa04062), клеточное старение (hsa04218), взаимодействие цитокинов и цитокиновых рецепторов (hsa04060) и транскрипционная дисрегуляция при раке (hsa05202). Также была установлена их связь с сигнальными механизмами, описанными в базе данных BioCarta (рис. 4B): сигнальный путь ИЛ-7 (M1296), сигнальный путь AKAP95 (M5731), сигнальный путь CCR5 (M2349), сигнальный путь RB (M18159), сигнальный путь CXCR4 (M882), сигнальный путь ARF (M11358), сигнальный путь Gleevec (M7897), сигнальный путь MTA3 (M225), сигнальный путь теломераз (M10401) и сигнальный путь EFP (M22011). Определены сигнальные пути из базы данных Reactome, ассоциированные с исследуемыми парами микроРНК-мРНК (рис. 4C): взаимодействия хемокиновых рецепторов с хемокинами (R-HSA-380108), Cdc20:Фосфо-APC/C-опосредованная деградация циклина A (R-HSA-174184), APC:Cdc20-опосредованная деградация белков клеточного цикла до достижения контрольной точки клеточного цикла (R-HSA-179419),

APC/C:Cdc20-опосредованная деградация митотических белков (R-HSA-176409), активация APC/C и APC/C:Cdc20-опосредованная деградация митотических белков (R-HSA-176814), регуляция активаторов APC/C между G1/S и ранней анафазой (R-HSA-176408), APC/C-опосредованная деградация белков клеточного цикла (R-HSA-174143), регуляция митотического клеточного цикла (R-HSA-453276), пептидные лиганд-связывающие рецепторы (R-HSA-375276) и сигнальные каскады семейства MAPK (R-HSA-5683057). Особенно стоит отметить *CXCL1, CXCL10, MAD2L1, MYC, PSMB9* и *CDK1*, которые оказались задействованы практически во всех вышеупоминавшихся сигнальных механизмах.

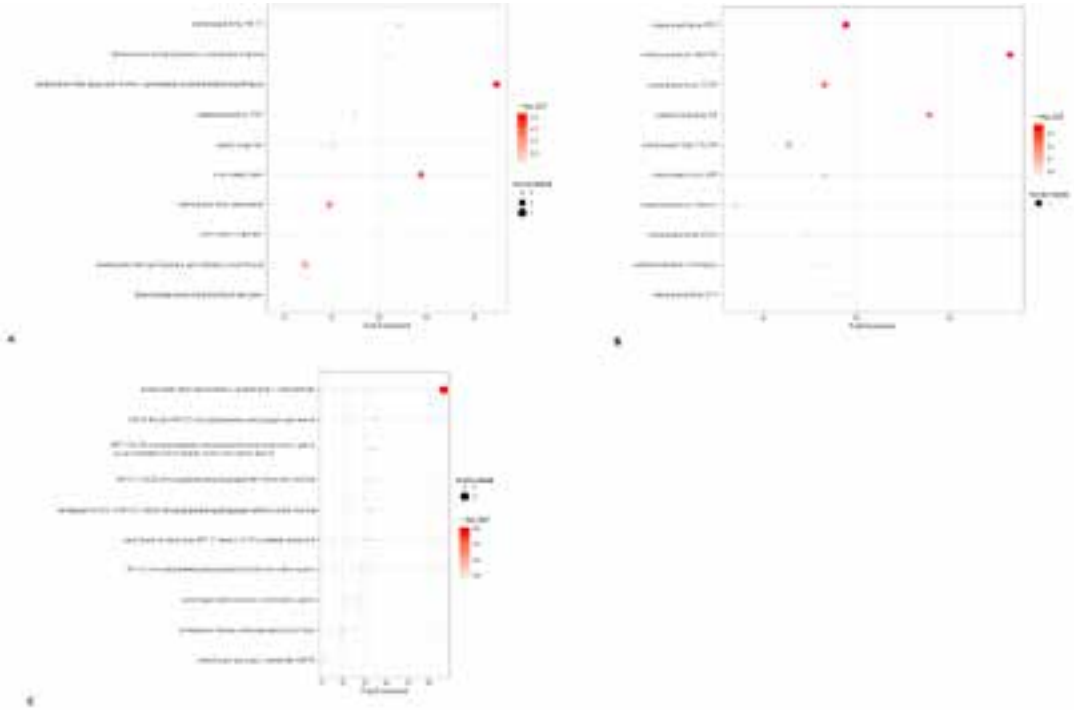


Рис. 4. Анализ обогащения по функциональной принадлежности: (**A**) сигнальные пути из KEGG, (**B**) сигнальные пути из BioCarta и (**C**) сигнальные пути из Reactome

В ходе поиска потенциальных мишеней для таргетной терапии был выделен *CDK1* (рис. 5). Ген *CDK1* является мишенью hsa-miR-99b-5p. Согласно полученным данным экспрессия этой пары микроРНК-мРНК была связана отрицательной корреляцией: уровень hsa-miR-99b-5p в опухоли снижался, тогда как уровень экспрессии самого *CDK1* вырос. Гиперэкспрессия CDK1 может быть связана с нарушением клеточного цикла, сигнального пути AKAP95 и RB. В связи с чем, CDK1 представляется перспективной мишенью для терапии КРР. Подтверждением тому может послужить работа Zhang P. et al., в которой сообщалось об эффективности применения таргетного препарата dinaciclib, индуцировавшего апоптоз в клеточных линиях КРР. Авторы установили, что сверхэкспрессия *CDK1* в сочетании с мутантным *BRAF* сопряжена с подавлением апоптотоза в опухолевой ткани [12]. В отличие от dinaciclib, который способен ингибировать помимо CDK1 также другие циклин-зависимые киназы, существуют CDK1-

специфичные таргетные препараты такие, как RO-3306. В недавнем исследовании было показано, что RO-3306 способен восстанавливать чувствительность опухолевых клеток КРР к препаратам платины [13].

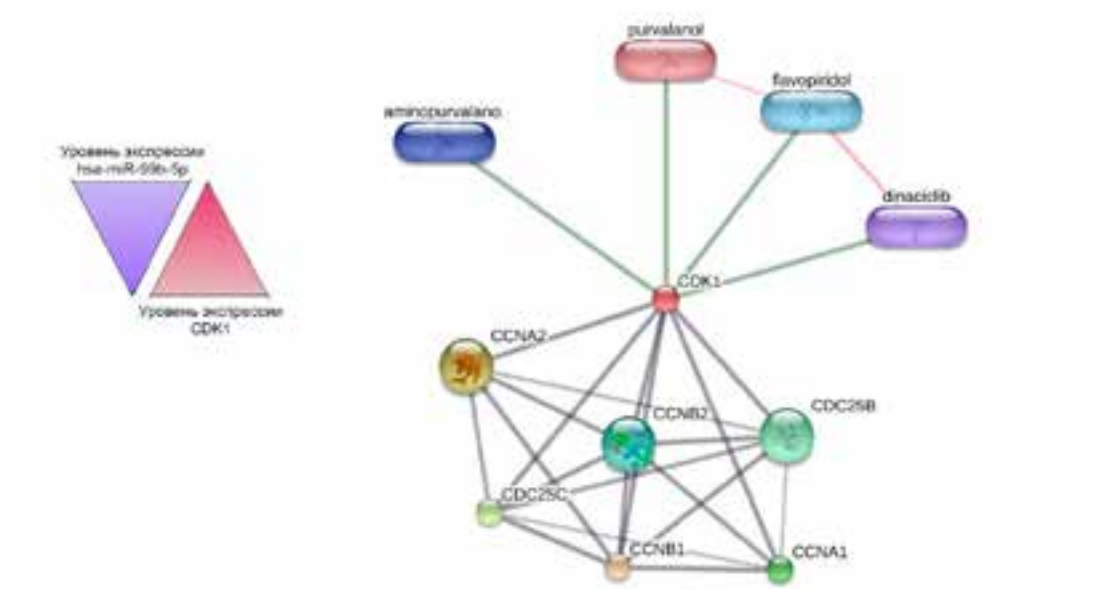


Рис. 5. Сеть взаимодействий CDK1 с таргетными препаратами и другими белками

Заключение. Методом высопроизводительного секвенирования были идентифицированы иммунно-ассоциированные микроРНК и их гены-мишени, дифференциально экспрессирующиеся в опухоли, сконструирована сеть взаимодействий микроРНК-мРНК и определены дисрегулированные иммунные сигнальные механизмы при КРР с микросателлитной нестабильностью. Предполагается, что при КРР имеет место значительный вклад микроокружения, обуславливающий дисрегуляцию и многих сигнальных путей, таких как сигнальный путь ИЛ-17, сигнальный путь ИЛ-7, сигнальный путь хемокинов. В сочетании с нарушением клеточного цикла дисрегуляция данных сигнальных путей представляется неотъемлемой частью онкогенеза. Ключевым звеном, участвующим в регуляции вышеназванных механизмов, является CDK1. Разработка терапевтических схем, нацеленных на ингибирование CDK1, может оказаться важным шагом на пути к персонифицированной терапии больных с КРР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sawicki T., Ruszkowska M., Danielewicz A., Niedźwiedzka E., Arłukowicz T., Przybyłowicz K.E. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis // Cancers (Basel). - 2021. - Vol. 13. - N9. - P. 2025.

2. Максимова П.Е., Голубинская Е.П., Сеферов Б.Д., Зяблицкая Е.Ю. Колоректальный рак: эпидемиология, канцерогенез, молекулярно-генетические и клеточные механизмы

резистентности к терапии (аналитический обзор) // Колопроктология. - 2023. - Т. 22. - N 2. - С. 160–171.

3. Xie S., Cai Y., Chen D., Xiang Y., Cai W., Mao J., Ye J. Single-cell transcriptome analysis reveals heterogeneity and convergence of the tumor microenvironment in colorectal cancer // Front Immunol. 2023;13:1003419.

4. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // Genome Biol. - 2014. - Vol. 15. - N. 12. - P. 550.

5. Marini F, Finotello F. quantiseqr: Quantification of the Tumor Immune contexture from RNA-seq data [Электронный ресурс]. - 2023. - URL: https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/quantiseqr.html

6. Le T.D., Zhang J., Liu L., Liu H., Li J. miRLAB: An R Based Dry Lab for Exploring miRNA-mRNA Regulatory Relationships // PLoS One. 2015. - Vol. 10. - N 12. - P. e0145386.

7. Ru Y., Kechris K.J., Tabakoff B., Hoffman P., Radcliffe R.A., Bowler R., Mahaffey S, Rossi S, Calin G.A., Bemis L., Theodorescu D. The multiMiR R package and database: integration of microRNA-target interactions along with their disease and drug associations // Nucleic Acids Res. – 2014. – Vol. 42. – N 17. – P. e133.

8. Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // Genome Res. -2003. – Vol. 13. – N 11. – P. 2498-2504.

9. Ulgen E., Ozisik O., Sezerman O.U. pathfindR: An R Package for Comprehensive Identification of Enriched Pathways in Omics Data Through Active Subnetworks // Front Genet. – 2019. – Vol. 10. P. 858.

10. Coker E.A., Mitsopoulos C., Tym J.E., Komianou A., Kannas C., Di Micco P., Villasclaras Fernandez E., Ozer B., Antolin A.A., Workman P., Al-Lazikani B. canSAR: update to the cancer translational research and drug discovery knowledgebase // Nucleic Acids Res. - 2019. – 47. - P. D917-D922.

11. Kuhn M., von Mering C., Campillos M., Jensen L.J., Bork P. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins // Nucleic Acids Res. – 2008. – Vol. 36. – P. D684-D688.

12. Zhang P., Kawakami H., Liu W., Zeng X., Strebhardt K., Tao K., Huang S., Sinicrope F.A. Targeting CDK1 and MEK/ERK Overcomes Apoptotic Resistance in BRAF-Mutant Human Colorectal Cancer // Mol Cancer Res. – 2018. – Vol. 16. – N 3. - P. 378-389.

13. Zeng K., Li W., Wang Y., Zhang Z., Zhang L., Zhang W., Xing Y., Zhou C. Inhibition of CDK1 Overcomes Oxaliplatin Resistance by Regulating ACSL4-mediated Ferroptosis in Colorectal Cancer. Adv Sci (Weinh). – 2023. – Vol. 10. – N 25. – P. e2301088.

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ БИОМАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ НА ПРОГНОЗ И РЕЗУЛЬТАТЫ ЭНДОВАСКУЛЯРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

И.Т. Закарая

ФГБУ «НМИЦ Сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Введение

Роль воспалительной реакции в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, ее влияние на результаты лечения является сегодня предметом активного изучения и научных дискуссий. Активация воспалительной реакции и дисфункция сосудистого эндотелия являются патогенетическими факторами развития осложнений атеросклероза. Артериальная стенка при атеросклерозе повреждается с участием иммунных механизмов. В результате воспаления происходят утолщение внутреннего слоя артерии, некроз срединного слоя, сегментарная пролиферация клеток внутреннего и среднего слоев, отложение липидов и кальция, образование тромбов на патологически измененном участке артерии. Дестабилизация атеросклеротической бляшки определяется высокой активностью хронического воспалительного процесса [1, 2].

В последние годы интенсивно увеличивается количество данных о роли генетических факторов, участвующих в регуляции биологических путей, связанных с атерогенезом и атеротромбозом, и с воспалением, в частности. Раскрытие механизмов и выявление связанных с ними биомаркеров прогрессирования атеросклеротического процесса и негативных результатов реваскуляризации миокарда, открывают возможности для более эффективной стратификации риска и дают новые инструменты для разработки более эффективных стратегий лечения [3, 4].

Цель исследования: разработать подход к оценке риска неблагоприятных результатов реваскуляризации миокарда на основе анализа генетических маркеров воспалительной реакции.

Материалы и методы

В исследование включено 84 пациента с ИБС, которые проходили обследование и лечение в клинико- диагностическом отделении ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ. Всем пациентам было проведено плановое чрескожное коронарное вмешательство. Критерии включения в исследование:

- Клиническая картина стабильной стенокардии и подтвержденное стресс-тестом наличие стресс-индуцированной ишемии миокарда;

- Поражение коронарного русла, позволяющее техническое выполнение ЧКВ.

  Пациенты с острым коронарным синдромом не включались.

Средний возраст больных составил- 57,2±2,1 лет. Когорту исследования составили 70 (83%) мужчин и 14 (17%) женщин. Средний возраст больных- 57,2±2,1 лет. Анамнез перенесенного инфаркта миокарда имели 70 (83%) пациентов. Стенокардия I- II ФК наблюдалась у 9 (11%) пациентов, тяжелые симптомы стенокардии III- IV ФК- у 75 (89%) больных. Симптомы хронической сердечной недостаточности I- II ФК (NYHA) имели место у 13 (15%) больных. Больных с тяжелыми симптомами ХСН не было в анализируемой когорте.

Молекулярно-генетический анализ. Выделение геномной ДНК проводили по протоколам коммерческого набора реактивов фирмы Qiagen (Германия) «QIAamp DNA Blood Mini Kit. Генотипирование проводили по протоколу GoldenGate компании Illumina (США) с синтезированными на заказ пробами.

Были генотипированы 14 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) 10 генов-кандидатов, участвующих в регуляции воспалительной реакции: CRP (rs1417938, rs1800947, rs1130864), TNF (rs385064), Limphotoxin-α (rs1800797), p22 (phox) (rs4673), Stromelysin-1 (rs3025058), P-selectin (rs3093030), LTA4H (rs2660899), CCRL2 (rs6971599), CCR2 (rs2227010), CCR5 (rs746492, rs1799988, rs 2097285).

Результаты

Был проведен анализ в 2 группах больных в зависимости от достижения клинических конечных точек, которыми считались: возврат стенокардии после ЧКВ; развитие инфаркта миокарда после ЧКВ; которые имели ангиографическое подтверждение в виде рестеноза стента или тромбоза стента или прогрессирования атеросклероза вне зоны стентирования; сердечно-сосудистая смерть. **Первая группа** – это 28 больных, пациенты, которые достигли клинических конечных точек. **Вторая группа** – это 56 больных, пациенты, у которых не наблюдалось неблагоприятных событий после операции. Средний срок наблюдения составил- 6,2 лет. **Установлена ассоциация носительства генотипа GG SNP rs746492 гена хемокинового рецептора CCR5 с риском неблагоприятных ССС в средне-отдаленные сроки после ЧКВ (ОШ=3,55; 95%ДИ: 1,31-9).**

Для изучения влияния носительства различных вариантов полиморфизма rs746492 CCR5 на особенности развития атеросклеротического процесса, клинической картины и течения ИБС, на результаты чрескожных коронарных вмешательств, нами было проведено сравнение клинических, ангиографических, эхокардиографических данных, показателей

эндотелиальной функции, тромбоцитарно-сосудистого гемостаза, маркеров воспаления, и метаболизма липидов с анализом отдаленных результатов лечения, в трех группах больных:

1 группа (19 больных)- носители генотипа AA rs746492 CCR5; ***2 группа*** (41 пациент)- носители генотипа AG rs746492 CCR5; ***3 группа*** (24 пациента)- носители генотипа GG rs746492 CCR5.

Сравнение клинико-анамнестических данных пациентов- носителей различных генотипов CCR5 не выявило существенных различий между группами как по частоте встречаемости факторов риска атеросклероза, тяжести клинических проявлений коронарной недостаточности, количеству перенесенных в анамнезе инфарктов миокарда, частоте развития хронической сердечной недостаточности.

Характеристика поражения коронарных артерий и выполненных ЧКВ. У носителей генотипа GG rs746492 CCR5 отмечалось более тяжелое диффузное поражение коронарных артерий- среднее количество пораженных коронарных артерий было больше, а средний индекс SYNTAX Score выше.

Соответственно, у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 среднее количество стентированных коронарных артерий и имплантированных стентов у 1 больного было больше, чем у носителей других генотипов. Что связано с более распространенным диффузным поражением коронарного русла.

Клинический статус в отдаленном периоде. Сравнение клинического статуса пациентов- носителей различных генотипов rs746492 CCR5 в течение 6– летнего периода наблюдения после ЧКВ показало, что у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 чаще отмечался возврат клинической картины стенокардии, в том числе стенокардии высокого функционального класса (III- IV ФК), в сравнении с носителями других генотипов rs746492 CCR5.

Суммарное количество неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (возврат стенокардии, инфаркт миокарда, сердечно-сосудистая смерть) за период наблюдения было существенно выше у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 и составило в 1 группе- 32% больных, во 2 группе- 41% больных, в 3 группе- 67%.

Анализ результатов контрольной коронарографии в отдаленные сроки наблюдения показал, что общее количество неблагоприятных ангиографических результатов (рестеноз стента+ прогрессирование коронарного атеросклероза+ тромбоз стента) было значительно выше у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 и достоверно различалось с

аналогичным показателем у носителей других генотипов: и составило в 1 группе- 32% пациентов, во 2 группе- 41%, в 3 группе- 71%.

Динамика гуморальных маркеров воспаления. До выполнения ЧКВ средние уровни ***СРБ*** были в пределах нормальных значений во всех анализируемых группах, но у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 уровень СРБ был на уровне верхней границы нормы и достоверно различался с показателями у носителей других генотипов. На 2 сутки после ЧКВ отмечено повышение уровней СРБ плазмы во всех группах как реакция на эндотелиальное повреждение при проведении эндоваскулярного вмешательства, во всех группах уровни СРБ превышали нормативные значения. Начиная с 10 суток и в течение последующих 6 месяцев наблюдения после ЧКВ наблюдалось снижение уровней СРБ во всех группах, но если в 1 и 2 группах уровни СРБ определялись уже в пределах референсных значений, то у носителей генотипа GG rs746492 CCR5 уровни СРБ были выше нормы. Через 1 год после ЧКВ средние уровни СРБ в плазме были в пределах нормы во всех трех группах. Данные наблюдения свидетельствуют о более значительно выраженной воспалительной реакции, сохраняющейся вплоть до 1 года после эндоваскулярного вмешательства, у носителей генотипа GG rs746492 CCR5.Анализ активности ***протеина С*** показал, что до выполнения эндоваскулярного вмешательства концентрация протеина С в плазме крови во всех анализируемых группах была ниже значений у здоровых доноров и существенно между группами не различалась. На 2 сутки после ЧКВ отмечалось еще более выраженное снижение концентрации протеина С в плазме у носителей генотипа GG rs746492 CCR5, что свидетельствует о снижении атромбогенного потенциала сосудистого эндотелия, индуцированного эндоваскулярной процедурой и, вероятно, запуском воспалительной реакции в эндотелии. На 10 сутки после ЧКВ концентрации протеина С в плазме продолжили дальнейшее снижение у носителей генотипа GG rs746492 CCR5. При последующем наблюдении в течение 6 месяцев наиболее низкие концентрации протеина С в плазме определялись у носителей генотипа GG rs746492 CCR5. Через 1 год после проведенного эндваскулярного лечения концентрации протеина С в плазме были уже в пределах референсных значений во всех трех группах, что свидетельствует об улучшении тромборезистентных свойств эндотелия при восстановлении эндотелиальной функции. Аналогичная динамика активности прослеживалась и для другого естественного антикоагулянта- ***Антитромбина III***, показывающая более низкий атромбогенный потенциал у носителей генотипа GG rs746492 CCR5.

Анализ динамики плазменных маркеров эндотелиальной дисфункции показал, что до выполнения ЧКВ концентрации молекулы сосудистой адгезии 1-го типа (***sVCAM-1***) были в пределах референсных значений во всех анализируемых группах. На 2 сутки после ЧКВ

отмечено повышение экспрессии sVCAM-1 во всех группах как реакция на повреждение эндотелия при эндоваскулярном вмешательстве и развитие эндотелиальной дисфункции, наиболее значительное повышение было отмечено у носителей генотипа GG rs746492 CCR5. На 10 сутки после ЧКВ отмечена тенденция к снижению плазменной концентрации sVCAM-1 во всех трех группах, но наиболее высокими оставались уровни у носителей генотипа GG rs746492 CCR5. При последующем наблюдении в течение 6 месяцев после ЧКВ концентрации sVCAM-1 в плазме оставались выше исходных значений во всех группах, что свидетельствует о сохранении эндотелиальной дисфункции и через 6 месяцев после ЧКВ. Через 1 год после эндоваскулярного вмешательства плазменные концентрации sVCAM-1 снизились во всех группах.

Анализ активности ***фактора фон Виллебранда*** показал, что до выполнения эндоваскулярного вмешательства активность vWF находилась в пределах референсных значений во всех анализируемых группах и существенно между группами не различалась. На 2 сутки после эндоваскулярного вмешательства отмечено повышение активности vWF во всех группах, что свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции в ответ на повреждение сосудистого эндотелия во время процедуры, наиболее высокое повышение активности vWF наблюдалось у носителей генотипа GG rs746492 CCR5. На 10 сутки после ЧКВ отмечено снижение активности vWF до исходных значений во всех анализируемых группах. На протяжении последующего периода наблюдения активность vWF сохранялась в пределах референсных значений.

Результаты нашего исследования показывают, что полиморфизм гена CC-хемокинового рецептора типа 5, и в частности, носительство генотипа GG, играет важную роль во всех механизмах атерогенеза, тромбообразования, пролиферации и формирования неоинтимы после чрескожных коронарных вмешательств, которые являются фундаментальными основополагающими механизмами развития тромбоза, рестеноза стента и дальнейшего прогрессирования коронарного атеросклероза.

Механическое повреждение стенки коронарной артерии при эндоваскулярном вмешательстве индуцирует воспаление, вызывающее усиление локального образования цитокинов, молекул адгезии и факторов роста. Хемокиновый рецептор CCR5 и его лиганды играют решающую роль в развитии воспалительной реакции путем рекрутирования иммунных клеток, таких как как моноциты и Т-клетки. Провоспалительные эффекты CCR5 вызывают развитие эндотелиальной дисфункции. Усиленное образование тромбина в результате повреждения эндотелия запускает не только воспалительную реакцию, но и

коагуляционный каскад. Повреждение эндотелия способствует взаимодействию тромбоцитов с коллагеном и фактором Виллебранда, что приводит к их активации и агрегации.

Предикторы неблагоприятных результатов ЧКВ. Был проведен предикторный анализ факторов, влияющих на неблагоприятный прогноз после чрескожных коронарных вмешательств. Установлено значение для следующих факторов:

- Имплантация стентов без лекарственного покрытия (ОШ=8,15 95%ДИ:2,12-31,43);
- SYNTAX Scor более 16 (ОШ=3,76 95%ДИ: 1,19-11,91);
- Уровень СРБ в течение 6 месяцев после ЧКВ более 0,5 мг/дл (ОШ=3,92 95%ДИ: 1,39-11,0);
- Высокая реактивность тромбоцитов на фоне ДАТТ через 1 месяц после ЧКВ (ОШ=2,75 95%ДИ: 1,03-7,35);
- Высокая реактивность тромбоцитов на фоне ДАТТ через 1 год после ЧКВ (ОШ=3,33 95%ДИ: 1,03-10,83);
- Недостижение целевых уровней липидограммы на фоне гиполипидемической терапии в течение всего периода наблюдения (ОШ=13,89 95%ДИ: 3,73-51,68);
- Снижение активности АТ III в течение 6 месяцев после ЧКВ (ОШ=9,0 95%ДИ: 1,33-61,14);
- Носительство генотипа GG rs746492 гена хемокинового рецептора CCR5 (ОШ=3,55 95%ДИ: 1,31-9,57);

Предикторами неблагоприятных ангиографических результатов ЧКВ явились:

- Рестеноз стента, прогрессирование коронарного атеросклероза, тромбоз стента в средне-отдаленные сроки - носительство генотипа GG rs746492 гена хемокинового рецептора CCR5 (ОШ=2,31 95%ДИ: 1,24-4,31);

Обсуждение

В последние годы накопились данные о том, что хемокиновый рецептор 5 (CCR5) и его лиганды играют критическую роль в регуляции воспалительной реакции. Эти данные показывают, что CCR5 специфически экспрессируется в эндотелиальных клетках и эндотелиальных клетках-предшественниках [5,6]. Ингибирование экспрессии CCR5 в эксперименте снижает воспалительный ответ, но это также усугубляет повреждение эндотелия, таким образом значительно ограничивая фактическую эффективность терапевтического вмешательства [7]. Поэтому изучение механизмов CCR5 и его лигандов, контролирующих эти процессы в эндотелиальных клетках и интенсивность воспалительной реакции, обеспечит более глубокое и обширное понимание патофизиологии атеросклероза и связанных с ним заболеваний, а также может быть использовано для разработки новых фармакологических стратегий.

В ранее опубликованных исследованиях также сообщалось, что мутация в области промотора гена CCR5 (CCR5-59029 G/A) была независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [8]. CCR5 59029A-положительный генотип коррелировал с повышенным риском острого коронарного синдрома [9].

Суммируя полученные результаты исследования, влияние полиморфизма rs746492 CCR5 чрезвычайно многофункционально, задействует широкий спектр патофизиологических процессов: воспаление, эндотелиальную дисфункцию, коагуляцию, тромбоцитарно-сосудистый гемостаз, пролиферацию, нарушения липидного метаболизма (Рис. 1).

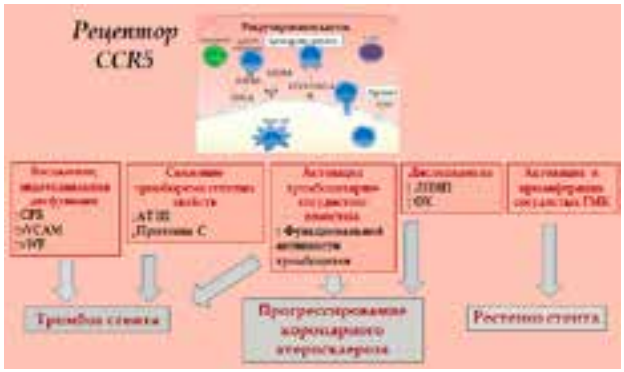


Рис.1. Патофизиология влияния полиморфизма rs746492 CCR5 на риск негативных результатов ЧКВ

Выводы

1. Установлено значимое влияние на риск неблагоприятных результатов ЧКВ носительства полиморфных генетических маркеров воспалительной реакции: гена хемокинового рецептора CCR5 (rs746492) (генотип GG: ОШ=3,55; 95%ДИ: 1,31-9,57).

2. Влияние полиморфизма хемокинового рецептора CCR5 (rs746492) многофункционально, задействует широкий спектр патофизиологических процессов: воспаление, эндотелиальную дисфункцию, коагуляцию, тромбоцитарно-сосудистый гемостаз, пролиферацию, нарушения липидного метаболизма. Которые являются фундаментальными основополагающими механизмами развития тромбоза, рестеноза стента и дальнейшего прогрессирования коронарного атеросклероза.

3. Влияние полиморфизма гена CCR5 rs746492 (носительства генотипа GG) на клиническое течение ИБС и результаты ЧКВ характеризуется:

- более тяжелым, диффузным поражением коронарных артерий и более высоким индексом SYNTAX Scor (11,7±1,33; 11,0±0,94; 14,72±1,28, у носителей генотипов AA, AG, GG, соответственно);

- развитием более тяжелой и обширной стресс-индуцированной ишемии миокарда при стресс-тесте (индекс Дюка: -9,6±0,52; -9,7±0,8; -11,2±0,4, у носителей генотипов AA, AG, GG, соответственно);

- более высоким суммарным показателем неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (возврат стенокардии+ инфаркт миокарда+ сердечно-сосудистая смерть) в средне-отдаленные сроки после ЧКВ (32%, 41%, 67%, у носителей генотипов AA, AG, GG, соответственно);

- более высоким суммарным показателем неблагоприятных ангиографических результатов (рестеноз стента+ прогрессирование коронарного атеросклероза+ тромбоз стента) в средне-отдаленные сроки после ЧКВ (32%, 41%, 71% у носителей генотипов AA, AG, GG, соответственно).

4. Носительство полиморфизма гена CCR5 rs746492 (генотипа GG) оказывает влияние на уровни гуморальных маркеров воспалительной реакции (повышение уровней СРБ в течение 6 месяцев после ЧКВ); эндотелиальной дисфункции (повышение экспрессии sVCAM-1 в течение 6 месяцев после ЧКВ, более высокая активность фактора Виллебранда после ЧКВ); сочетается со снижением тромборезистентности (снижение активности антитромбина-III и протеина С); высокой остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии и коррекции схемы терапии; недостижением целевых уровней липидограммы на фоне гиполипидемической терапии.

5. Установлено предикторное значение во влиянии на неблагоприятные результаты ЧКВ следующих факторов:

Имплантация стентов без лекарственного покрытия (ОШ=8,15 95%ДИ:2,12-31,43); SYNTAX Scor более 16 (ОШ=3,76 95%ДИ: 1,19-11,91); уровень СРБ в течение 6 месяцев после ЧКВ более 0,5 мг/дл (ОШ=3,92 95%ДИ: 1,39-11,0); высокая реактивность тромбоцитов на фоне ДАТТ через 1 месяц после ЧКВ (ОШ=2,75 95%ДИ: 1,03-7,35); высокая реактивность тромбоцитов на фоне ДАТТ через 1 год после ЧКВ (ОШ=3,33 95%ДИ: 1,03-10,83); недостижение целевых уровней липидограммы на фоне гиполипидемической терапии в течение всего периода наблюдения (ОШ=13,89 95%ДИ: 3,73-51,68); снижение активности АТ

III в течение 6 месяцев после ЧКВ (ОШ=9,0 95%ДИ: 1,33-61,14); носительство генотипа GG rs746492 гена хемокинового рецептора CCR5 (ОШ=3,55 95%ДИ: 1,31-9,57);

В том числе предикторами неблагоприятных ангиографических результатов ЧКВ явились:

Рестеноз стента, прогрессирование коронарного атеросклероза, тромбоз стента в средне-отдаленные сроки – ассоциировался с носительством генотипа GG rs746492 гена хемокинового рецептора CCR5 (ОШ=2,31 95%ДИ: 1,24-4,31);

ЛИТЕРАТУРА

1. Bellien, Jérémy, et al. "Physiological role of endothelin-1 in flow-mediated vasodilatation in humans and impact of cardiovascular risk factors." Journal of Hypertension 35.6 (2017): 1204-1212. doi:10.1097/HJH.0000000000001307

2. Ф.Н.Палеев, И.С.Белокопытова, Б.И.Минченко, О.В.Москалец - Роль цитокинов в патогенезе ишемической болезни сердца// Креативная кардиология. - 2011. - №1. -С.75-80.

3. Schooling C.M., Kodali H., Li S., Borrell L.N. Endothelin-1 and ischemic heart disease: A mendelian randomization study. Circ. Genom. Precis. Med. 2018; 11 (3): e002026. doi:10.1161/CIRCGENETICS.117.002026

4. Zhao C., Zhu P., Shen Q., Jin L. Prospective association of a genetic risk score with major adverse cardiovascular events in patients with coronary artery disease. Medicine (Baltimore). 2017; 96 (51): e9473. doi:10.1097/ MD.0000000000009473

5. Suffee N., Hlawaty, H., Meddahi-Pelle, A., Maillard, L., Louedec, L., Haddad, O., et al. RANTES/CCL5-induced pro-angiogenic effects depend on CCR1, CCR5 and glycosaminoglycans. // Angiogenesis. 2012; 15 (4): 727–744. doi:10.1007/s10456-012-9285-x

6. Zhang Z., Liu, J., Wang, H., Wu, H., Wu, X., Dong, J., et al. Association between Chemokine Receptor 5 (CCR5) delta32 gene variant and atherosclerosis: a meta-analysis of 13 studies.// Int. J. Clin. Exp. Med. 2015; 8: 658–665.

7. Zhang Z., Wang Q., Yao J., Zhou X., Zhao J., Zhang X., Dong J., Liao L. Chemokine Receptor 5, a Double-Edged Sword in Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. // Frontiers in Pharmacology. 2020; 11 (146): 4-10. doi: 10.3389/fphar.2020.00146

8. Vogiatzi K., Voudris V., Apostolakis S., Kochiadakis G.E., Thomopoulou S., Zaravinos A., Spandidos D.A. Genetic diversity of RANTES gene promoter and susceptibility to coronary artery disease and restenosis after percutaneous coronary intervention. //Thromb. Res.- 2009.- № 124(1):84-89. doi: 10.1016/j.thromres.2008.12.043.

9. Ting, K. H., Ueng, K. C., Chiang, W. L., Chou, Y. E., Yang, S. F., Wang, P. H. (2015). Relationship of Genetic Polymorphisms of the Chemokine, CCL5, and Its Receptor, CCR5, with Coronary Artery Disease in Taiwan. Evid. Based Complement Alternat. Med. 2015, 851683. doi: 10.1155/2015/851683

ОСОБЕННОСТИ ГОМЕОДИНАМИКИ МЕДИ У ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ ГЕНА БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА ATP7B

Е.Ю. Ильичева, М. Аль Фаррух, Д.Н. Магазенкова, Н.В. Цымбаленко
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Болезнь Вильсона (БВ) – редкое наследственное моногенное аутосомно-рецессивное заболевание метаболизма меди, вызванное мутациями в гене медь-транспортной АТФазы *ATP7B*. В организме млекопитающих белок ATP7B локализован преимущественно в печени и выполняет две основные функции: (1) встраивание атомов меди в апо-церулоплазмин (апо-ЦП) в транс-сети Гольджи для формирования функционального секреторного холо-церулоплазмина (ЦП), основного медь-транспортного белка сыворотки крови позвоночных; (2) выведение избытка меди путем ее перемещения в лизосомы и связывания меди в визикулы для экспорта через каналикулярную мембрану в желчь [1].

Дефицит или дисфункция ATP7B приводят к нарушению механизмов встраивания меди в ЦП и выведения ее избытка, что ведет к значительному снижению содержания меди в сыворотке крови и ее накоплению в печени, нервной системе, роговице, почках сердце. Таким образом, низкая концентрация меди и ЦП в сыворотке крови, появление в крови «свободной меди», не ассоциированной с ЦП, а также увеличение содержания меди в моче являются биохимическими проявлениями БВ [2]. Увеличение концентрации меди внутри клетки приводит к образованию свободных радикалов и развитию окислительного стресса и, а также ведет к нарушению функций митохондрий, которое возникает независимо от окислительного стресса. Совместное воздействие этих факторов приводит к гибели клеток в тканях печени, головного мозга и других органов [3].

В настоящее время известно более 900 патогенных мутаций в гене *ATP7B*, которые приводят к развитию БВ, при этом некоторые варианты с высокой частотой аллелей, вероятно, демонстрируют низкую пенетрантность и отсутствие симптомов БВ [1]. Наиболее распространенной мутацией среди пациентов из Северной и Восточной Европы является точечная замена C3207A, которая ведет к аминокислотной замене H1069Q [3]. Основными формами БВ являются печеночная и неврологическая. Печеночная форма проявляется в дисфункции гепатоцитов, варьирующейся от стеатоза до острой печеночной недостаточности, гепатита и фиброза, а неврологическая форма ведет к развитию нервно-психических симптомов, таких как тремор, проблемы с речью, ригидность мышц, беспокойство и изменения личности. Нарушение метаболизма меди при БВ также приводит к появлению колец Кайзера-Флейшера в роговице, развитию заболевания почек, кардиомиопатии,

артриту, панкреатиту, эндокринным заболеваниям. Исследования метаболома показали, что у мышей с нокаутом гена *ATP7B* происходит снижение активности ядерных рецепторов (ТФ), участвующих в поддержании обмена веществ, нарушение углеводного обмена, метаболизма аминокислот, холина, путей окислительного стресса, что может приводить к развитию метаболического синдрома (ожирение, стеатоз, нарушение толерантности к глюкозе, чувствительности к инсулину, диабет) и сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Носители гомозиготной мутации H1069Q демонстрируют полный спектр клинических проявлений [5].

Исследования БВ, в основном, проводят на пациентах с гомозиготными мутациями в гене *ATP7B* или на мышах с гомозиготным нокаутом этого гена. Однако число гетерозиготных, в том числе и компаундных, носителей гена ATP7B в некоторых регионах может достигать 2,5–3% от общего населения [6].

В связи с этим мы изучили особенности метаболизма меди у мышей, которые являются гетерозиготными носителями гена БВ ATP7B (*ATP7B+/-*). Для этого нами были сформированы 4 группы мышей линии C57Bl/6:

Группа 1 – интактные животные, содержащиеся на стандартной диете (СД);

Группа 2 – мыши, содержащиеся на высококалорийной диете (ВКД);

Группа 3 – гетерозиготные мыши *ATP7B*+/-, содержащиеся на СД;

Группа 4 – гетерозиготные мыши *ATP7B*+/-, содержащиеся на ВКД.

Эксперимент длился 18 недель. Каждые 7 дней у животных измеряли массу тела. По окончании исследования у всех мышей были определены показатели статуса меди, липидного обмена, уровень экспрессии генов медь-ассоциированных белков. Кроме того, был проведен гистологический анализ препаратов печени, подкожного и висцерального жира.

За время эксперимента масса тела животных всех четырех групп увеличилась на ~50% (20 г *vs* 29 г) и практически не отличалась между группами. При этом у животных групп 2 и 4, получавших ВКД произошло увеличение объема жировой ткани в областях, характерных для подкожной и висцеральной жировой клетчатки в 2–3 раза.

Анализ показателей статуса меди (концентрация меди, содержание ЦП и уровень его оксидазной активности), концентрации липидов и их переносчиков в сыворотке крови мышей всех групп существенно не отличались друг от друга. При этом у гетерозиготных животных группы 4, получавших ВКД, уровень глюкозы в сыворотке крови был значительно ниже, чем у мышей других групп (Рисунок 1).

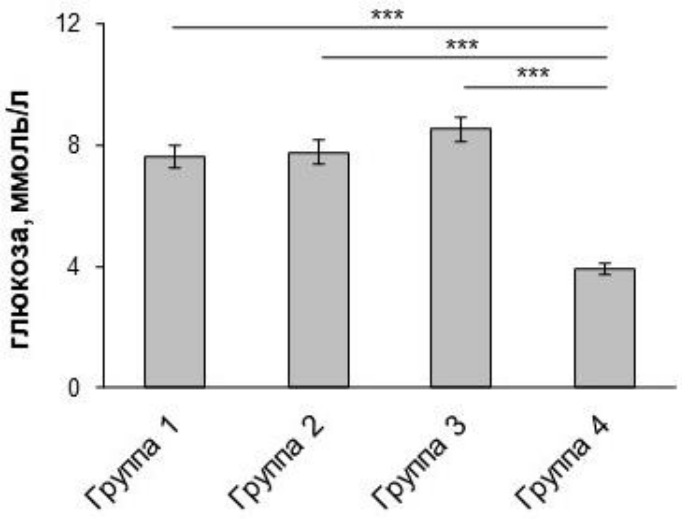


Рисунок 1. Уровень глюкозы в крови мышей. Ось ординат: концентрация глюкозы, ммоль/л. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ***: $p < 0.01$

Гистологический анализ препаратов печени показал, что у животных дикого типа, находящихся на СД, печень выглядела так же, как у интактных мышей со всеми характерными для нее структурными элементами (Рисунок 2А). Гепатоциты располагались правильными рядами и формировали печеночные дольки с центральной веной в центре. Ядра гепатоцитов имели округлую форму и располагались, как правило, в центре клетки. Крупные липидные капли в цитоплазме гепатоцитов отсутствовали. ВКД приводила к некоторым структурным изменениям в печени мышей группы 2, получавших ВКД. В частности, в гепатоцитах появлялись липидные капли разных размеров. У гетерозиготных животных в печени сохранялось дольковое строение, однако наблюдались признаки структурных нарушений, характерные для БВ: липидные включения небольшого диаметра в цитоплазме гепатоцитов, расширенные синусоидные капилляры, заполненные эритроцитами, эозинофилы, а также зоны некроза в паренхиме печени. На фоне ВКД состояние печени у гетерозиготных животных еще больше ухудшалось. У них развивалась жировая дистрофия разной степени выраженности.

Анализ состояния соединительной ткани показал, что в печени гетерозиготных мышей коллагеновые волокна были не только в рыхлой соединительной ткани крупных сосудов, но и вблизи расширенных синусоидных капилляров (Рисунок 2Б). У этих животных были признаки некроза и жирового перерождения, что характерно для БВ. У гетерозиготных мышей группы 4, получавших ВКД, накопление меди в печени, характерные для БВ, сочетались с проблемами жирового обмена, в результате чего гепатоциты группировались по несколько клеток, окруженных соединительной тканью, что свидетельствует о развитии фиброза.

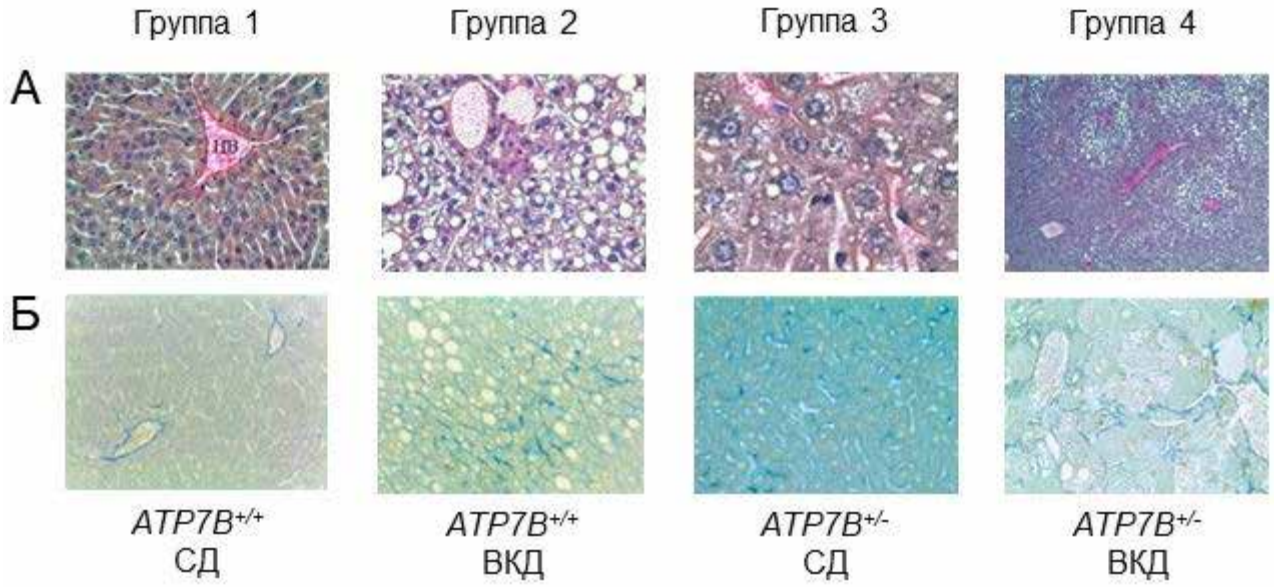


Рисунок 2. Морфология печени (А) и выявление соединительных волокон в соединительной ткани печени (Б) мышей. ЦВ – центральная вена печеночной дольки. Стрелки – синусоидные капилляры дольки. Окраска гематоксилином-эозином (А) и анилиновым синим (Б); СД – стандартная диета, ВКД – высококалорийная диета; Увеличение х400

Гистологический анализ препаратов подкожной жировой ткани (ЖТ) у мышей дикого типа, содержавшихся на СД, полностью соответствовал классическому описанию: клетки подкожной жировой клетчатки имели неправильную форму, разные размеры, узкий ободок цитоплазмы, практически всю клетку занимала одна липидная вакуоль, ядро клетки было смещено на периферию, имело уплощенную форму и не всегда было определяемо (Рисунок 3А). У мышей группы 2, получавших ВКД, средняя величина адипоцитов увеличивалась более, чем в два раза (Рисунок 3Б). Число жировых клеток на единицу площади уменьшалось пропорционально (Рисунок 3В). Это происходило за счет гипертрофии жировых клеток. Количественная оценка подкожной жировой ткани у гетерозиготных животных группы 3 показала, что средний размер адипоцитов у мышей этой группы больше, чем у диких мышей более, чем в полтора раза. У гетерозиготных мышей, получавших ВКД, средняя площадь жировой клетки и количество клеток на 1 мм^2 достоверно не отличалась от площади жировой клетки в контрольной группе. Таким образом, ВКД у ATP7B+/- мышей приводит к парадоксальному эффекту: снижение средней площади адипоцитов в подкожной жировой ткани. Частично это можно объяснить увеличением площади жировых клеток в висцеральной жировой ткани у животных 4 группы по сравнению с контрольной группой 1 (Рисунок 3Б).

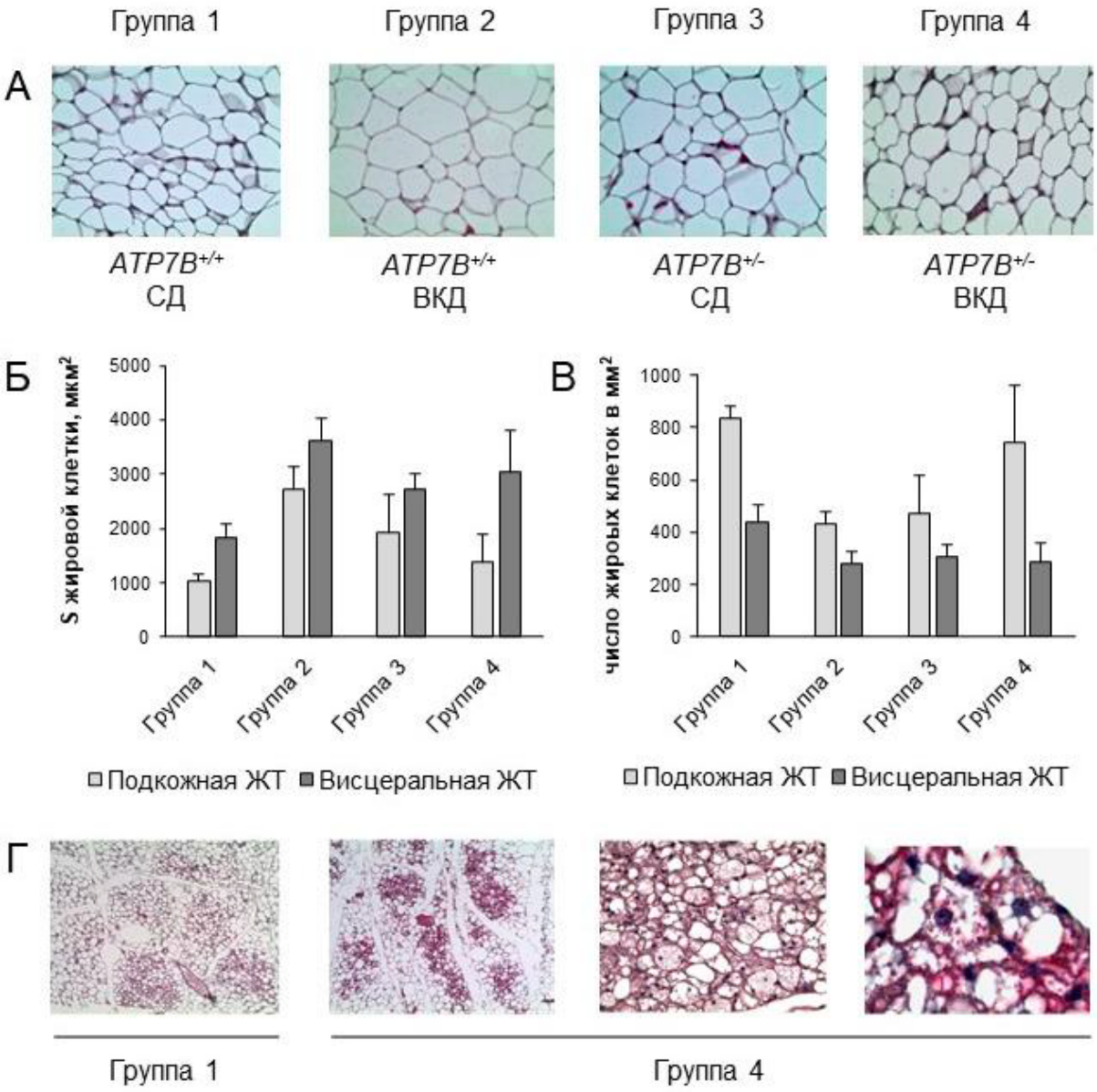


Рисунок 3. Анализ жировой ткани экспериментальных мышей. (А) Фрагменты подкожной жировой ткани, окрашенные гематоксилином и эозином; увеличение х400; Анализ площади (Б) и количества (В) жировых клеток в подкожной и висцеральной жировой ткани животных; (Г) Островки ЖТ, напоминающие бурую жировую ткань, клетки которой окружены адипоцитами подкожной ЖТ; окраска гематоксилином-эозином. СД – стандартная диета, ВКД – высококалорийная диета

Кроме того, у всех гетерозиготных животных, получавших ВКД наблюдалась активация ЖТ, сходной по морфологическим критериям с бурой ЖТ (Рисунок 3Г), что было дополнительно подтверждено с помощью ОТ-ПЦР анализа с помощью специфических праймеров к гену *ZIC1*, специфически экспрессирующегося в клетках бурой ЖТ. Бурая ЖТ располагается в виде островков вблизи кровеносных сосудов и состоит из клеток, в цитоплазме которых содержится не одна крупная липидная вакуоль, а множество мелких. Ядро клеток бурой жировой ткани не смещено на

периферию, как у адипоцитов подкожной ЖТ. Известно, что клетки бурой жировой ткани действуют в основном как источник энергии. Они не накапливают липиды, а активно их сжигают, превращая энергию в тепло. Кроме того, клетки бурой ЖТ способствуют всасыванию глюкозы из крови. Таким образом с активацией бурой ЖТ сочетается тенденция к уменьшению средней площади адипоцитов в подкожной ЖТ у гетерозиготных мышей, получавших ВКД, и низкий уровень глюкозы в группе гетерозиготных животных, получавших ВКД, которые были описаны выше (Рисунки 1 и 3, соответственно).

Анализ уровня экспрессии генов метаболической системы меди показал, что в печени мышей, содержавшихся на ВКД, уровень мРНК медь-ассоциированных генов значительно снижался (Рисунок 4А). У гетерозиготных мышей группы 4 эти изменения были более значительны. В клетках подкожной ЖТ у животных, получавших ВКД уровень экспрессии генов, участвующих в металлировании ЦП, наоборот, повышался (Рисунок 4Б). В клетках висцеральной ЖТ ВКД не стимулировала активность генов, взятых в рассмотрение.

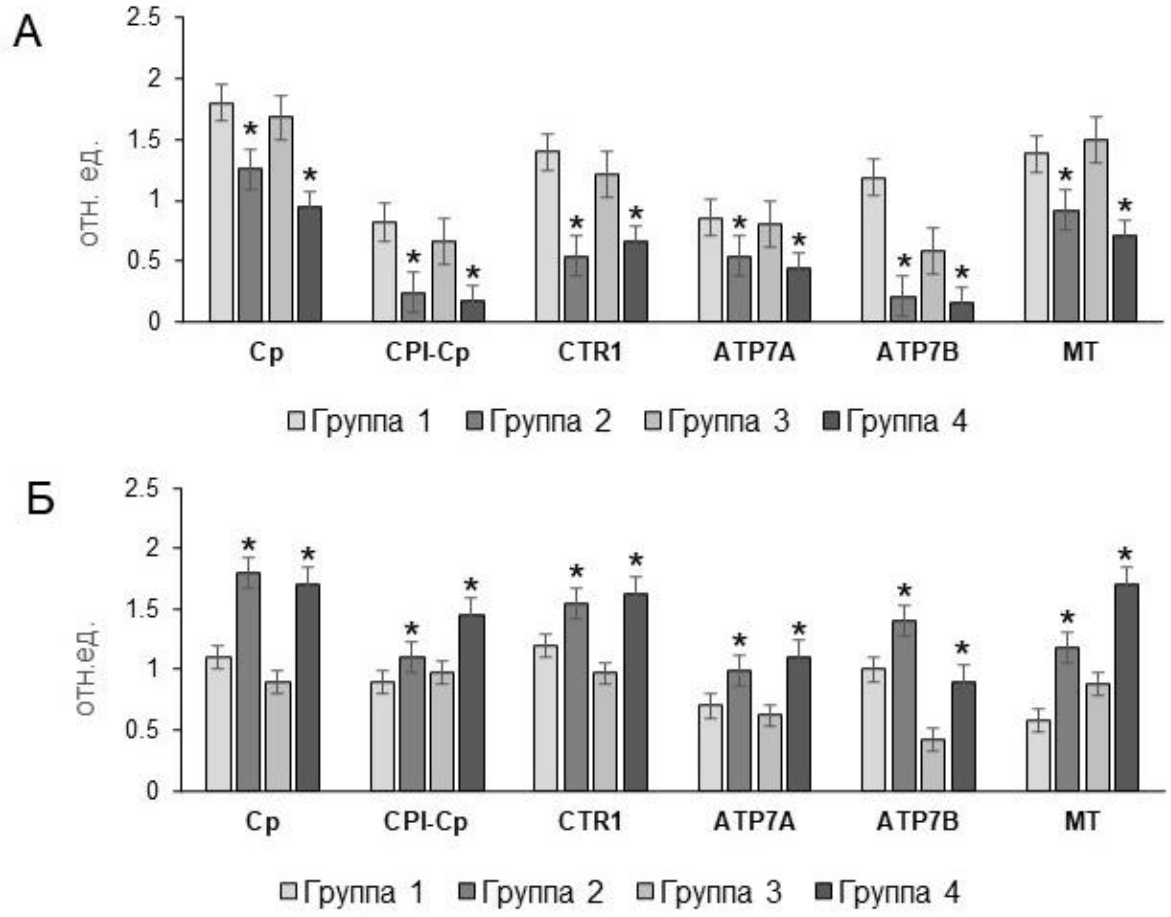


Рисунок 4. Изменение уровня экспрессии генов метаболической системы меди в печени (А) и подкожной ЖТ (Б) мышей. Данные представлены как Среднее ± стандартное отклонение; *: $p < 0.05$

Согласно принятой ранее концепции, гетерозиготные носители гена БВ могут иметь незначительные изменения метаболизма меди, которые не приводят к развитию заболевания и не нуждаются в медицинском контроле. Однако современные методы исследования позволили обнаружить, что число гетерозиготных носителей гена болезни Вильсона значительно выше, чем думали раньше. Оно варьируется в разных странах и составляет 1:250 в Японии, 1:53 в Корее, 1:31 в Южной Корее и 1:25 в Великобритании [7]. Индивидуальные клинические проявления БВ разнообразны и объясняются различными экологическими и генетическими факторами. В последние годы все больше обращает на себя внимание связь показателей статуса меди с развитием болезни Паркинсона (БП) [8]. Мы проанализировали 50 пациентов с установленным диагнозом болезнь Паркинсона и показали, что у 30% из них была снижена концентрация меди, при этом содержание белка ЦП изменялось не значительно [9]. Дальнейший анализ показал, что это может быть связано с потерей лабильных атомов меди в молекуле ЦП у пациентов с БП. Кроме того, мы обнаружили, что среди пациентов с БП, у которых снижены показатели статуса меди, встречаются гетерозиготные носители БВ с заменой Cys1079Gly в четырнадцатом экзоне гена *ATP7B*, которая потенциально может приводить к нарушению конформации нуклеотид-связывающего *N*-домена [10].

Все полученные нами данные свидетельствуют о необходимости контроля статуса меди, режима питания и неврологических симптомов у гетерозиготных носителей мутации в гене БВ *ATP7B* для предотвращения патологий печени, метаболических нарушений, а также ранней диагностики и более эффективного лечения БВ и БП, которые потенциально могут развиться у этих пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shribman S., Aurelia Poujois A., Bandmann O., Czlonkowska A., Thomas T.W. Wilson’s disease: update on pathogenesis, biomarkers and treatments// J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021. – N 92. – P. 1053–1061.
2. Reed E., Lutsenko S., Bandmann O. Animal models of Wilson disease// J Neurochem. 2018. – N 146(4). – P. 356-373.
3. Bandmann O., Weiss K.H., Kaler S.G. Wilson's disease and other neurological copper disorders// Lancet Neurol. 2015. – N 14(1). P. 103-113.
4. Wooton-Kee C.R., Robertson M., Zhou Y., et al. Metabolic dysregulation in the Atp7b-/- Wilson's disease mouse model// Proc Natl Acad Sci U S A. 2020. – N 117(4). – P. 2076-2083.

5. Vrabelova S., Letocha O., Borsky M., Kozak L. Mutation analysis of the ATP7B gene and genotype/phenotype correlation in 227 patients with Wilson disease// Mol Genet Metab. 2005. – N 86(1-2). – P. 277-285.
6. Członkowska A., Litwin T., Dusek P. et al. Wilson disease// Nat Rev Dis Primers. 2018. - N 4. – P. 21.
7. Collet C., Laplanche J.L., Page J., Morel H., Woimant F., Poujois A. High genetic carrier frequency of Wilson's disease in France: discrepancies with clinical prevalence// BMC Med Genet. – 2018. – N 19(1). P. 143.
8. Botsford E., George J., Buckley E.E. Parkinson's Disease and Metal Storage Disorders: A Systematic Review// Brain Sci. 2018. – N 8(11). – P. 194.
9. Ilyechova E.Y., Miliukhina I.V., Orlov I.A., Muruzheva Z.M., Puchkova L.V., Karpenko M.N. A low blood copper concentration is a co-morbidity burden factor in Parkinson's disease development// Neurosci Res. 2018. – N 135. – P. 54-62.
10. Ilyechova E.Y., Miliukhina I.V., Karpenko M.N., Orlov I.A., Puchkova L.V., Samsonov S.A. Case of Early-Onset Parkinson's Disease in a Heterozygous Mutation Carrier of the ATP7B Gene// J Pers Med. 2019. – N 9(3). – P. 41.

ПЕРВЫЙ ПОЛНЫЙ ГЕНОМ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОГО ИЗОЛЯТА *RAOULTELLA ORNITHINOLYTICA* КЛИНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ИЗ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.Е. Карпенко, Ю.В. Михайлова, Н.Г. Куликова, А.А. Шеленков

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия.

1. Введение

Raoultella ornithinolytica — это грамотрицательные, неподвижные, инкапсулированные, факультативно анаэробные бактерии, принадлежащие к семейству *Enterobacteriaceae* [1]. Первоначально этот вид был отнесен к кластеру II рода *Klebsiella* как *Klebsiella ornithinolytica*, но был выделен и переименован в новый род в 2001 году, когда стали доступны расширенные филогенетические исследования. Бактерия *R. ornithinolytica* преимущественно встречается в почвенной среде, в рыбе, птице и насекомых [2-4].

Данный патоген превращает гистидин в гистамин, таким образом, вызывая отравление гистамином с последующим покраснением кожи при отравлении рыбой [5]. В настоящее время, число сообщений об инфекциях человека, вызванных *R. ornithinolytica,* возросло: были зарегистрированы случаи заражения человека этим видом, причем некоторые из них приводили к летальному исходу у пациентов с ослабленным иммунитетом [6-8].

В целом, большинство видов рода *Raoultella* были чувствительны к большинству антибиотиков [9,10]. Однако они проявляли природную устойчивость к тикарциллину и ампициллину, а также сообщалось о нескольких случаях приобретенной устойчивости к цефалоспоринам, аминогликозидам и даже множественной лекарственной устойчивости [11,12].

Несмотря на то, что этот возбудитель участвует в многоцентровом эпидемиологическом мониторинге антибиотикорезистентных микроорганизмов в России [13] и описано и охарактеризовано несколько клинических изолятов [10], полногеномные последовательности клинических российских изолятов, насколько нам известно, не загружены в общедоступных базах данных. Таким образом, наличие таких данных было бы полезно для эпидемиологических исследований этого возбудителя во всем мире.

В этой работе мы представляем данные по первому полному геному клинического изолята *R. ornithinolytica* из России и описываем фенотипический и генетический профили резистентности к противомикробным препаратам, факторам вирулентности, а также филогенетический анализ и характеристику плазмид.

2. Материал и методы

2.1. Характеристика образца

Точная видовая идентификация была определена с помощью полногеномного секвенирования (WGS). Данный изолят CriePt486 был протестирован на чувствительность/резистентность к следующим препаратам методом минимальной ингибирующей концентрации (МИК) с использованием анализатора VITEK 2 Compact 30 (bioMerieux, Франция): ампициллин, амоксициллин, пиперациллин, цефепим, цефтазидим, цефотаксим, цефтриаксон, имипенем, меропенем, эртапенем, гентамицин, тобрамицин, левофлоксацин и ципрофлоксацин. Для интерпретации полученных результатов использовали систему EUCAST, версия 11.0 (https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).

2.2. Выделение ДНК, секвенирование генома и аннотация

Геномную ДНК выделяли с помощью набора DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Германия); затем набором Nextera DNA Sample Prep Kit (Illumina, США) подготовили библиотеки парных концов для WGS изолята на платформе Illumina NextSeq 2000 (Illumina, США).

Для получения сборки генома использовали SPAdes версии 3.15.2 [14]. Аннотация генома была реализована с использованием описанного ранее алгоритма [15,16]. Для обнаружения антимикробных генов резистентности использовалось программное обеспечение Resfinder 4.3.0 (https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/, с использованием параметров по умолчанию). Факторы вирулентности выявляли с помощью VFDB (http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm, с использованием параметров по умолчанию).

Плазмидные репликоны выявляли с помощью пакета MOB [17] с использованием параметров по умолчанию (mob typer версии 3.1.2).

Поскольку в настоящее время для *R. ornithinolytica* не существует схемы типирования MLST или cgMLST, филогенетический анализ проводился путем построения дерева по алгоритму максимального правдоподобия на основе референсного генома с помощью roagu 3.13.0 [18] nRAxML 8.2.11 [19].

3. Результаты

Исследуемый изолят CriePt486 был выделен в больнице г. Москвы в 2021 году из мокроты пациента, поступившего туда по поводу острой хронической обструктивной болезни легких и выписанного из больницы после десяти дней успешного ингаляционного лечения амикацином. WGS на приборе Illumina NextSeq дало 2 679 478 пар коротких ридов длиной до 300 ни. Размер собранного генома составил примерно 5,6 Мб.

Клинический изолят *R. ornithinolytica* обладал фенотипической устойчивостью к ампициллину и амоксициллину, что хорошо соответствовало полученным данным WGS (рисунок 1). Судя по аннотации генома, CriePt486 обладал паттерном устойчивости к Р-лактамам, связанным с пенициллиназой *Ыарша* [20]. Дополнительно мы идентифицировали ген устойчивости к фосфомицину *fosA*.

Рисунок 1. Фенотипический и генетический профили устойчивости к антибиотикам клинического изолята *R. omithinolytica* CriePt486. К карбапенемам относятся имипенем, меропенем и эртапенем. Аминогликозиды включают гентамицин и тобрамицин.

Изолят CriePt486 обладал несколькими кластерами факторов вирулентности, которые представлены в таблице 1, необходимыми для успешного выживания в условиях окружающей среды, адгезии и инвазии клеток-хозяев, а также иммунной модуляции [21].

Таблица 1. Факторы вирулентности клинического изолята *Raoultella omithinolytica* CriePt486

Гены вирулентности	Роль
acrAB	Антимикробная активность/ Конкурентноспособность
entABCEFS	Питание/метаболический фактор
fepACDG	Питание/метаболический фактор
ftmACDEH	Фимбрии I типа - адгезия
fur	Регуляция
fyuA	Питание/метаболический фактор
galF	Капсула - Иммунная модуляция
gndA	Капсула - Иммунная модуляция, сывороточная резистентность
irpl, irp2	Питание/метаболический фактор
iutA	Питание/метаболический фактор
mrkABC	Фимбрии III типа - образование биопленки
ompA	Инвазия
phoP	Регуляция
rcsB	Регуляция
rpoS	Регуляция
ugd	Капсула - Иммунная модуляция
yagZ/ecpA	Адгезия
ybtAEPOSTUX	Питание/метаболический фактор

При поиске плазмидных последовательностей *in silica* был обнаружен репликон плазмиды IncFIB (pKPHSl) длиной около 111 т.п.и. Согласно прогнозу программного пакета MOB [17], плазмида изолята CriePt486 была немобилизуемой и не несла никаких факторов антибиотикорезистентности или вирулентности. Наиболее близкое совпадение в базе данных для этой плазмиды выявлено для плазмиды *Klebsiella oxytoca* pKO_ЛСоЗ_2 (AP014953) того же типа, с которой она имела сходство 98%. Референтная плазмида также не содержала каких-либо детерминант устойчивости или вирулентности.

Чтобы провести филогенетический анализ, мы сравнили наш изолят со 130 геномами, доступными в базе данных NCBI RefSeq, для которых уровень сборки был указан как «хромосома», или «полный геном» (https://www. ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/54291/). Дерево максимального правдоподобия было построено на основе клады, включающей в себя CriePt486 и три ближайших референтных изолята. В этом наборе изолятов было 4478 общих основных генов, итоговое дерево показано на рисунке 2. Ближайшим эталонным геномом был GCF_030717445 (штамм RSM7096 из Уганды), а два других включали GLF 010594705 (штамм AS012358, США) и GCF_001598295 (штамм NBRC 105727, Япония). RSM7096 и NBRC 105727 обладали тем же набором генов устойчивости к противомикробным препаратам с CriePt486, тогда как AS012358 дополнительно обладал генами бета-лактамаз *ЫаьАР-i* и *ЫamEM-iB,* которые, вероятно, были приобретены посредством переноса плазмиды.

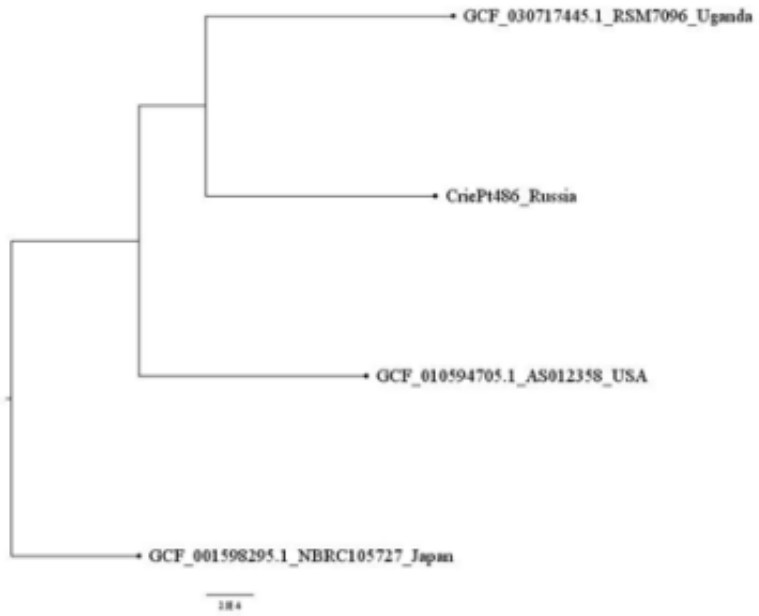


Рисунок 2. Дерево максимального правдоподобия для эталонных геномов, наиболее близких к CriePt486

4. Заключение

Мы представили важные данные по первому полному геному клинического изолята *R. ornithinolytica* из России. Филогенетический анализ показал, что несмотря на сходство с референтными геномами по 4478 генам, количество генов в изученном CriePt486 превысило 15 000. Это свидетельствует о высокой геномной изменчивости и потенциале приобретения патогенных факторов в будущем для глобальной популяции *R. ornithinolytica.*

Наличие геномных данных описанного изолята будет способствовать дальнейшему пониманию эволюции *R. ornithinolytica*, эпидемиологическому мониторингу при циркуляции в бактериальных популяциях, а также распространении генов антибиотикорезистентности, вирулентности и других факторов патогенности для этого возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Drancourt M., Bollet C., Carta A., и др. Phylogenetic analyses of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb, nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. *11* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2001. № 3 (51). С. 925-932.

2. Bao W., Zhou Y., Jiang J., и др. Complete Genome Sequence of *Raoultella ornithinolytica* Strain S12, a Lignin-Degrading Bacterium Isolated from Forest Soil // Genome Announcements. 2015. №2 (3). С. e00104-15.

3. Kanki M., Yoda T., Tsukamoto T., и др. *Klebsiella pneumoniae* Produces No Histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* Strains Are Histamine Producers *11* Applied and Environmental Microbiology. 2002. № 7 (68). С. 3462-3466.

4. El-Shannat S.M., El-Tawab A.A. A., Hassan W.M.M. Emergence of *Raoultella ornithinolytica* isolated from chicken products in Alexandria, Egypt // Veterinary World. 2020. № 7 (13). С. 1473- 1479.

5. Kabbara W.K., Zgheib Y.R. Diabetic foot infection caused by *Raoultella ornithinolytica I I* American Journal of Health-Sy stem Pharmacy. 2015. № 24 (72). С. 2147-2149.

6. Chun S., Yun J.W., Huh H.J., и др. Clinical characteristics of *Raoultella ornithinolytica* bacteremia//Infection. 2015. № 1 (43). С. 59-64.

7. Etani T., Kondo S., Yanase T., и др. Clinical characteristics of *Raoultella ornithinolytica* bacteremia and antimicrobial susceptibility of *Raoultella ornithinolytica 11* Journal of Infection and Chemotherapy. 2023. № 5 (29). С. 554-557.

8. Hajjar R., Ambaraghassi G, Sebajang H, и др. *Raoultella ornithinolytica'.* Emergence and Resistance//Infection and Drug Resistance. 2020. (Volume 13). С. 1091-1104.

9. Kozlov R, Kuzmenkov A. The Dynamics of Antimicrobial Resistance among *Enterobacteriaceae* Isolates in Russia: Results of the 2012-2018 INFORM and ATLAS International Program Studies // Antibiotics. 2022. № 6 (11). С. 790.

10. Stzkowska A. *Raoultella* spp.—clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics // Folia Microbiologica. 2017. № 3 (62). С. 221-227.

11. Seng P, Boushab B.M., Romain F., и др. Emerging role of *Raoultella ornithinolytica* in human infections: a series of cases and review of the literature // International Journal of Infectious Diseases. 2016. (45). С. 65-71.

12. Tayo A., Nyame K. Sepsis From Multisystem Infection With Multidrug-Resistant *Raoultella ornithinolytica 11* Cureus. 2022.

13. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Ivanchik N.V., и др. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: results of multi center epidemiological study

“MARATHON 2015-2016” // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2019. № 2 (21). C. 147-159.

14. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., и др. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing // Journal of Computational Biology. 2012. № 5 (19). C. 455-477.

15. Shelenkov A., Petrova L., Fomina V., и др. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Strain with Cointegrate Plasmid//Microorganisms. 2020. № 11 (8). C. 1775.

16. Shelenkov A., Petrova L., Zamyatin M., и др. Diversity of International High-Risk Clones of *Acinetobacter baumannii* Revealed in a Russian Multidisciplinary Medical Center during 2017-2019 *11* Antibiotics. 2021. № 8 (10). C. 1009.

17. Robertson J., Bessonov K., Schonfeld J., и др. Universal whole-sequence-based plasmid typing and its utility to prediction of host range and epidemiological surveillance //Microbial Genomics. 2020. № 10 (6).

18. Page A.J., Cummins C.A., Hunt M., и др. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis//Bioinformatics. 2015. №22 (31). C. 3691-3693.

19. Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models // Bioinformatics. 2006. № 21 (22). C. 2688-2690.

20. Walckenaer E., Poirel L., Leflon-Guibout V., и др. Genetic and Biochemical Characterization of the Chromosomal Class A P-Lactamases of *Raoultella* (formerly *Klebsiella) planticola* and *Raoultella ornithinolytica 11* Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004. № 1 (48). C. 305-312.

21. Li Y., Qiu Y., Gao Y., и др. Genetic and virulence characteristics of a *Raoultella planticola* isolate resistant to carbapenem and tigecycline // Scientific Reports. 2022. № 1 (12). C. 3858.

ГЕНОМНЫЙ МОНИТОРИНГ ШТАММОВ *V. CHOLERAE* В СИСТЕМЕ ЭПИДНАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2023

А.А. Ковалевич, О.А. Подойницына, А.С. Водопьянов, А.К. Носков

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов–на–Дону, Ростовская область, Российская Федерация

GENOMIC MONITORING OF *V. CHOLERAE* STRAINS IN THE CHOLERA SURVEILLANCE SYSTEM IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2023

A.A. Kovalevich, O.A. Podoinitsyna, A.S. Vodopyanov, A.K. Noskov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

В рамках эпидемиологического надзора за холерой в Российской Федерации (РФ) для обеспечения эффективного целевого предупреждения угроз биологической безопасности населения и оперативного противодействия в случае осложнения эпидемической обстановки по холере одной из основных задач является своевременное обнаружение токсигенных штаммов холерных вибрионов. Эта задача реализуется, в том числе, в ходе мониторинга объектов окружающей среды (ООС) – поверхностных водоемов, сточных вод [1] Плановые профилактические исследования проб из ООС на наличие холерных вибрионов O1/O139 серогрупп ежегодно проводятся на территории России в объеме более 100 тыс. исследований в год. Цель мониторинга, с одной стороны, определение вероятности дальнейшего распространения инфекции водным путем при выявленном завозе, а с другой стороны, установление не выявленных завозов в отсутствие эпидемических проявлений. В связи с этим первостепенное значение приобретает геномный мониторинг выделенных штаммов *V. cholerae*, позволяющий определить особенности их генетической организации и филогенетические связи со штаммами, циркулирующими в стране и в мире.

В 2023 г. в ходе ежегодного мониторинга за контаминацией холерными вибрионами воды из объектов окружающей среды в 11 субъектах РФ изолировано 52 нетоксигенных штамма *Vibrio cholerae* O1 El Tor (рис. 1), что на 18,9 % больше, чем в 2022 г. (43 штамма) [2]. Холерные вибрионы O139 серогруппы за изучаемый период выделены не были.

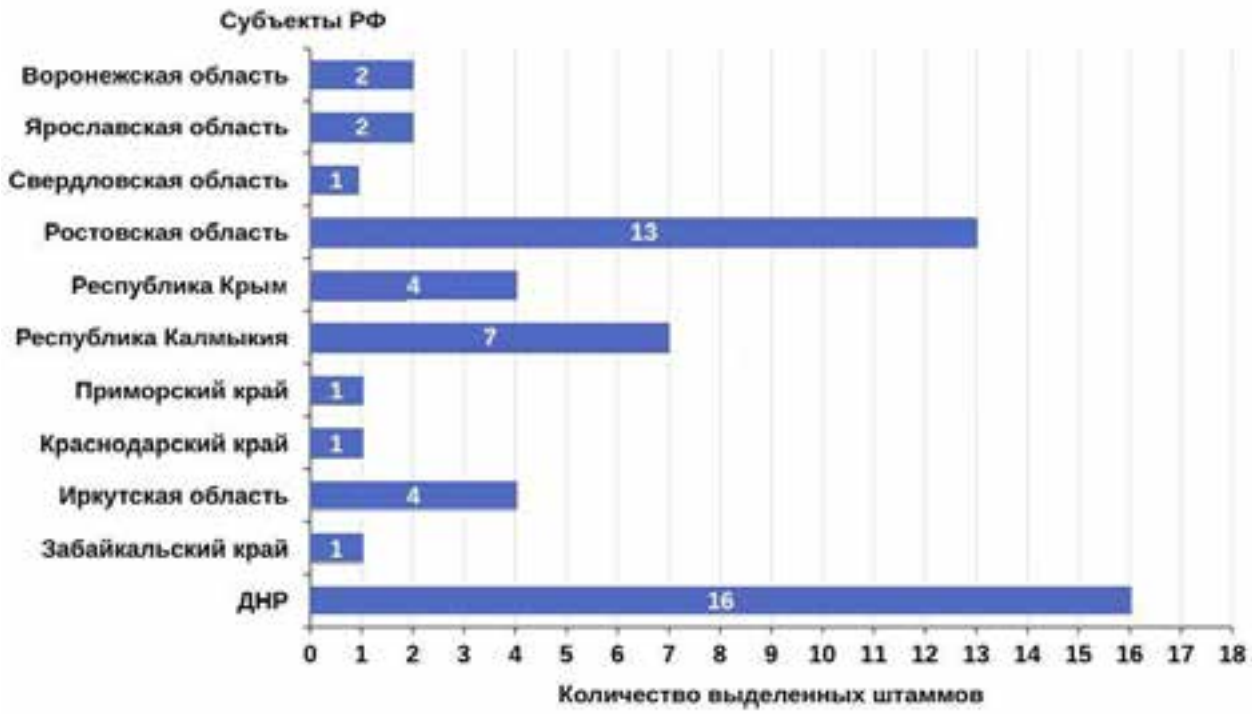


Рис. 1. Нетоксигенные штаммы *V. cholerae* O1, выделенные из поверхностных водоемов на территории субъектов РФ в 2023 г.

В настоящей работе был использован метод генотипирования, основанный на оценке единичных нуклеотидных замен (Single nucleotide polymorphism, SNP) в геноме холерного вибриона, в результате чего было получено филогенетическое дерево, где штаммы, выделенные из объектов окружающей среды, распределились по кластерам, соответствующим их генетической близости (рис. 2).

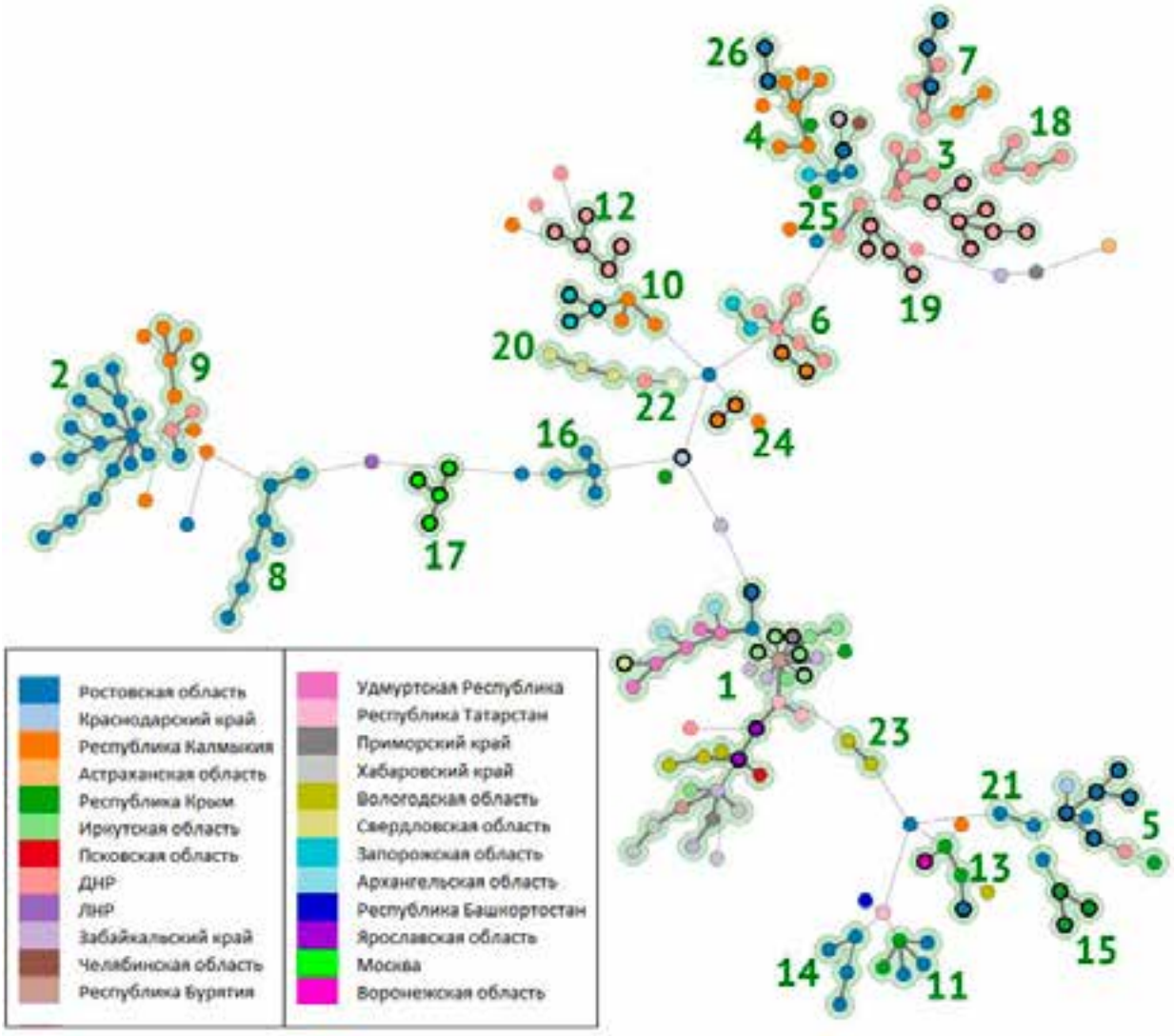


Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основе SNP-анализа сиквенсов нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из поверхностных водоемов в субъектах РФ в период с 2005 по 2023 гг. Штаммы, изолированные в 2023 г., обозначены жирной обводкой

В результате проведенного анализа было установлено, что штаммы обладали различными наборами детерминант факторов патогенности/персистенции, которые в определенных условиях потенциально могут вызвать спорадические случаи, что косвенно подтверждается выделением нетоксигенного штамма от больного ОКИ в 2023 г. (г. Мелитополь, Запорожская область). Эти штаммы, как оказалось, вошли в один кластер со штаммами, выделенными в Республике Калмыкия в 2013 г. (кластер № 10, рис. 2), что даёт основание говорить об их не заносном происхождении. Водные штаммы, выделенные в ДНР (2023 г.), образовали отдельные кластеры (№№ 12 и 19), рядом с ними расположены штаммы, изолированные на данной территории в другие годы, что свидетельствует о местном происхождении штаммов *V. cholerae* O1. Вместе со штаммами с этих территорий, выделенными в прошлые годы, в состав кластеров №№ 24 и 26 также вошли штаммы холерных вибрионов, изолированные в Республике Калмыкия и Ростовской области. Согласно дендрограмме,

штамм, выделенный в Приморском крае, расположен в одном кластере вместе с четырьмя представителями *V. cholerae* O1 из Иркутской области (№ 1), причем в этот же кластер вошли штаммы из Забайкальского края, Республики Бурятия и Иркутской области, выделенные в предыдущие годы. Как видно, нетоксигенные штаммы O1 серогруппы, изолированные в 2023 году, представляют собой довольно гетерогенную группу, что свидетельствует о высоком генетическом полиморфизме, свойственном виду.

Помимо нетоксигенных штаммов, в 2023 г. в России из воды реки Темерник на фоне эпидемического благополучия по ОКИ в Ростове-на-Дону был выделен штамм *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa ($ctxA^{+}tcpA^{+}$) (рис. 3). Основываясь на данных, полученных при изучении генотипа этого штамма, можно сделать вывод, что в последние годы генетически близкие данному токсигенному штамму изоляты из ООС и от людей на территории РФ не обнаруживались. Штамм отличается генотипом, сформированным циркулировавшими с 90-х годов прошлого века изолятами *ctxB1* $tcpA^{El\ Tor}$ *rtxA1* VSP-II без делеций [2, 3]. В настоящее время штаммы этой группы не склонны к эпидемическому распространению и практически вытеснены новыми геновариантами, однако изредка встречаются даже среди клинических (Южная Корея, 2016; Бангладеш, 2018), а также в 1990-х гг. были обнаружены на Украине и в России. Возможно, выявление штамма с таким генотипом в Ростове-на-Дону в 2023 г. является следствием неустановленного завоза из-за рубежа без распространения и свидетельствует о том, что данные изоляты все еще сохраняются на отдельных эндемичных территориях.

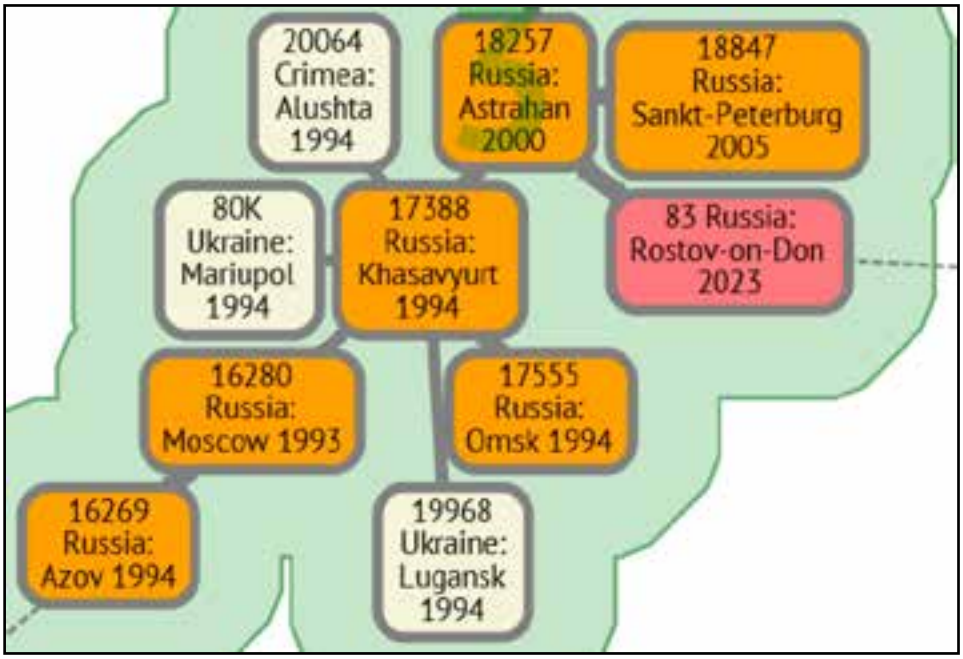


Рис. 3. Фрагмент дендрограммы (MST), отражающий степень генетической близости между токсигенными штаммами *V. cholerae* O1 серогруппы

Таким образом, геномный мониторинг нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1/O139 серогрупп, выделенных из поверхностных водоемов на территории РФ в 2023 г., позволяют констатировать, что все выделенные нетоксигенные штаммы холерных вибрионов и подобные им, которые встречались в разное время на различных территориях страны, по-видимому, не имеют заносного происхождения, длительно циркулируют в поверхностных водоемах на территории субъектов РФ, а их обнаружение свидетельствует о риске подключения водного фактора распространения инфекции в случае заноса токсигенного штамма. В то же время, обнаружение в 2023 г. на территории РФ холерного вибриона, несущего гены холерного токсина, который по генетических характеристикам был близок к штаммам, циркулировавшим ранее на эндемичных территориях Азиатском региона, свидетельствует о незарегистрированном заносе возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4 (зарегистрировано Минюстом России 15.02.2021, регистрационный № 62500).
2. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. //Проблемы особо опасных инфекций. – 2023.– № 1. – С. 56-66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.
3. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N., et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic //Nature. – 2011. – Т. 477. – №. 7365. – С. 462-465.
4. Смирнова Н.И., Баданин Д.В., Рыбальченко Д.А., Краснов Я.М., и др. Изменчивость генома холерных вибрионов Эль Тор, выделенных до начала и в разные периоды текущей пандемии холеры //Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т. 39. – №. 2. – С. 25-37.

Сведения об авторах

Ковалевич Алексей Александрович – младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, kovalevich_aa@antiplague.ru, https://orcid.org/0000-0001-6926-0239

Подойницына Оксана Андреевна – старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, podoynitcina_oa@antiplague.ru, https://orcid.org/0000-0002-9996-4189

Водопьянов Алексей Сергеевич – ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций, vodopyanov_so@antiplague.ru, https://orcid.org/0000-0002-9056-3231

Носков Алексей Кимович – к.м.н., директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: noskov-epid@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0550-2221.

СОВРЕМЕННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАКА ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

Е.С. Колегова, М.Р. Патышева, Д.Е. Кульбакин, Е.В. Денисов

Введение. Злокачественные опухоли головы и шеи занимают седьмое место по распространенности, почти в половине случаев поражая ротовую полость [1-3]. Заболеваемость раком полости рта (РПР) среди пациентов молодого возраста (моложе 45 лет согласно критериям ВОЗ) растет с каждым годом [2, 3]. При этом для молодых пациентов с РПР характерно отсутствие классических этиологических факторов, характерных для больных старшего возраста с опухолями головы и шеи: употребление табака, алкоголя и инфицирование вирусом папилломы человека [4]. Клиническое течение заболевания у молодых людей довольно неоднородно, при этом часто отмечается быстрое прогрессирование: 5-летняя безрецидивная выживаемость у пожилых пациентов составляет 73% против 40% у молодых, 5-летняя выживаемость без отдаленных метастазов – 97% против 62%, а общая выживаемость – 70% против 42% [5, 6]. Склонность к высокому прогрессированию опухолевого процесса у молодых больных может быть обусловлена повышенным инвазивным и метастатическим потенциалом РПР, а также малой эффективностью стандартных схем лечения без учета биологических особенностей опухоли.

Цель работы: изучить молекулярные особенности РПР в молодом возрасте.

Материал и методы. В работе исследован 41 пациент с РПР стадии T2-3N0-2M0. Пациенты были разделены на две группы: моложе (n=28) и старше 45 лет (n=13). Материалом для исследования явилась периферическая кровь, свежезамороженная опухолевая ткань и фиксированные в формалине парафинизированные образцы опухоли. У всех пациентов выполнено полноэкзомное и 16S секвенирование, и у 14 больных раком языка (РЯ) (10 больных моложе 45 лет, 4 – старше 45 лет) проведено пространственное транскриптомное секвенирование опухолевой ткани. Из образцов опухоли и периферической крови выделена ДНК с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США). Подготовка экзомных ДНК-библиотек проводилась с помощью технологии SureSelect XT v. 7.0 (Agilent, США), секвенирование выполнялось на платформе NextSeq 2000 (Illumina, США). Амплификация 16S рРНК проводилась с использованием пары праймеров 341F и 805R к гипервариабельной области V3-V4 с дальнейшим секвенированием на платформе MiSeq (Illumina, США). РНК-секвенирование выполнялось на срезе ткани по протоколу Visium Spatial for FFPE Gene Expression Kit (10x Genomics, США). Статистическая обработка результатов выполнена с использованием программы Statistica 10.

Результаты. В результате полноэкзомного секвенирования ткани первичной опухоли и периферической крови больных ПКПР моложе и старше 45 лет идентифицированы мутации (SNVs, indels), чаще встречающиеся у молодых пациентов (таблица 1).

Таблица 1. Частота соматических мутаций (SNVs, indels) у больных РПР моложе и старше 45 лет

Ген	**Частота мутаций гена у пациентов моложе 45 лет (N=28), *100%**	**Частота мутаций гена у пациентов старше 45 лет (N=13), *100%**	**p**
TP53	78	69	0,414
CACNA-G	48	46	0,920
TTN	43	54	0,549
TCAF2	35	54	0,265
MUC16	30	23	0,472
MUC19	30	23	0,472
BRCA2	26	15	0,381
MIR5195	26	23	0,586
LINC00221	26	23	0,586
LOC112267881	**26**	**0**	**0,052**
TERT	22	15	0,500
KIR2DS3	22	23	0,618
MUC4	22	38	0,243
CSMD1	22	0	0,089
HMCN2	22	23	0,618
KIR2DS5	22	31	0,413
CDKN2A	22	8	0,276
RYR1	22	8	0,276
NONE	22	38	0,243

Среди обнаруженных вариантов мутации в гене *LOC112267881* присутствовали только в ткани ПКПР у молодых больных и отсутствовали у возрастных пациентов. Наиболее часто мутирующим геном у молодых и возрастных пациентов с ПКПР был *TP53*. При этом однонуклеотидные варианты гена *TP53* rs121913343 и rs28934575 повторялись у трех и двух

молодых пациентов, соответственно, и отсутствовали у возрастных больных. Дополнительно проведен поиск аберраций числа копий ДНК (CNAs) в ткани опухоли молодых и возрастных пациентов (таблица 2). Найдена амплификация гена *DEFB125*, которая встречается чаще на уровне тенденции у молодых пациентов с ПКПР по сравнению с возрастными. При функциональном аннотировании генов, мутации которых встречаются только у молодых больных, обнаружено значимое обогащение метаболических (инозитолфосфата, белкового обмена, паратиреоидных гормонов) и сигнальных (Rap1 и MAPK) путей.

Таблица 2. Частота аберраций числа копий ДНК (CNAs) у больных РПР моложе и старше 45 лет

Хромосома	**Начало**	**Конец**	**Тип нарушения**	**Гены**	**Частота встречаемости у пациентов моложе 45 лет (N=28), *100%**	**Частота встречаемости у пациентов старше 45 лет (N=13), *100%**	**p**
1	1450589	1452397	Амплификация	*ATAD3C*	9	0	0,402
2	17511041	17515039	Амплификация	*RAD51AP2*	9	0	0,402
4	53245	53334	Амплификация	*ZNF595*	9	15	0,459
5	113197	140167	Амплификация	*PLEKHG4B*	39	54	0,307
9	12158	12608	Амплификация	*DDX11L5*	17	0	0,150
12	12622	14993	Амплификация	*WASH8P*	9	31	0,109
13	18177783	18207272	Амплификация	*FAM230C*	9	0	0,402
18	47244	47357	Амплификация	*TUBB8B*	22	31	0,414
20	**87535**	**87627**	**Амплификация**	***DEFB125***	**43**	**18**	**0,086**
21	44323167	44323659	Амплификация	*PFKL*	9	0	0,402
22	18173444	18173654	Амплификация	*USP18*	9	0	0,402
X	150500	293240	Амплификация	*PLCXD1*	17	15	0,631

С помощью метода пространственной траскриптомики обнаружено 12 кластеров, соответствующих популяциям нормальных клеток языка, опухолевых и иммунных клеток. Для опухолевых кластеров молодых в отличие от возрастных больных РЯ были характерны снижение экспрессии генов, связанных с окислительным фосфорилированием (*ATF5PF, SDHD, GBP5,*

NDUFA3, UQCR11, COX7B, S100A7), и повышение экспрессии генов, связанных с гликолизом (*PFKFB3*), работой МАРК (*EGR1, IL1B, MAP2K1, MAP2K3, FOS, FOSB, JUN, JUNB, FOSL1, FOSL2*) и JAK-STAT сигнальных путей (*STAT3, MYC*) и процессами сосудистой мимикрии (*ITGA5, ITGB1, EPHA2, FN1, MMP14, COL1A1*) (рисунок 1). Микроокружение РПР молодых пациентов по сравнению с возрастными обогащено опухоль-ассоциированными макрофагами, что подтверждается гиперэкспрессией генов *SERPINB2, LYZ* и *OSM*, и супрессорными клетками миелоидного происхождения (MDSC), представленными генами *FCGRB3* и *PFKFB3* с повышенной экспрессией (рисунок 1).

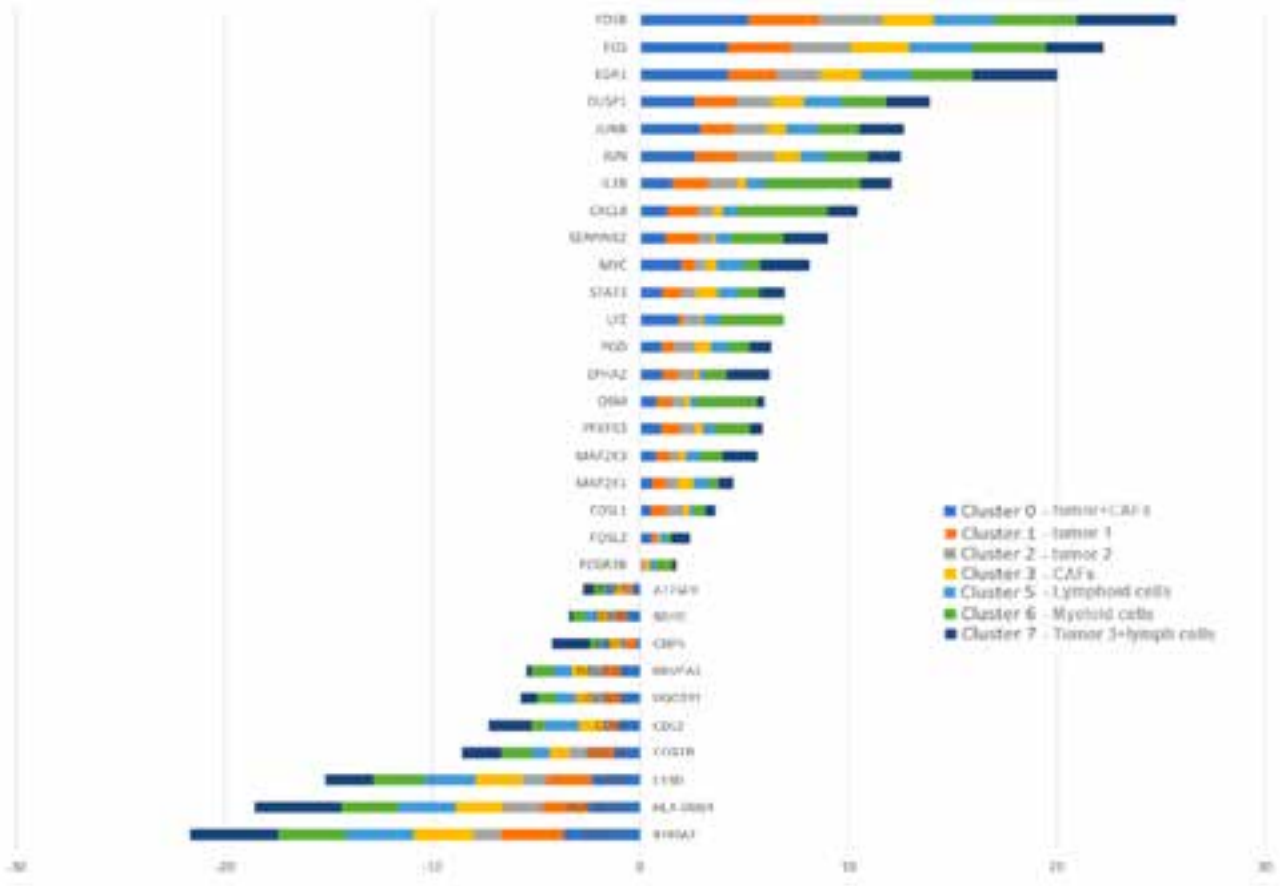


Рисунок 1. Дифференциально-экспрессирующиеся гены опухолевых кластеров и кластеров микроокружения у молодых больных РЯ

В результате 16S секвенирования рРНК ткани ПКПР идентифицирован профиль микробиомного сообщества больных моложе и старше 45 лет. На уровне рода и вида были обнаружены микроорганизмы, уровень которых значимо различался у молодых и возрастных больных (таблица 3). Было выявлено увеличение количества сиквенсов бактерий рода *Anoxybacillus* и *Granulicatella* в 2,1 и в 2,9 раз, соответственно, в ткани ПКПР молодых пациентов по сравнению с возрастными. В ткани возрастных пациентов было значимо увеличено в 4,0-8,5 раз содержание бактерий рода *Fusobacterium, Helcococcus, Klebsiella* и *Parvimonas,* а также вида

Propionibacterium acnes в 3,4 раза. Вид *Streptococcus infantis* встречался только у пациентов с ПКПР моложе 45 лет в 46% случаев.

Таблица 3. Профиль микробиомного сообщества ПКПР у молодых пациентов по сравнению с возрастными больными

Род	Вид	Кратное изменение	p
Anoxybacillus		2,075	0,010
Fusobacterium		0,185	0,009
Granulicatella		2,979	0,044
Helcococcus		0,191	0,013
Klebsiella		0,250	0,037
Parvimonas		0,118	0,012
Propionibacterium	*Acnes*	0,293	0,045

Заключение. Результаты работы демонстрируют специфические мутационный, транскриптомный и микробиомный ландшафты РПР у пациентов моложе 45 лет и могут свидетельствовать о том, что РПР в молодом возрасте является отдельной клинической формой. Полученные данные являются основой для разработки новых методов ранней диагностики и прогнозирования исхода РПР у молодых пациентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00308) и при использовании оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). Под ред. В.В. Старинского, А.О. Шахозадовой и др. ФГБОУ МНИОИ им. П.А. Герцена МЗ РФ Российский центр информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии. 2023. 252 с.

2. Chen J.K. Changing trends in oral cancer in the United States, 1935 to 1985: a Connecticut study / J.K. Chen, E. Eisenberg, D.J. Krutchkoff [et al.] // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1991. – Vol. 49(11). – P. 1152-1158.

3. da Silva Souto A.C. Epidemiology of tongue squamous cell carcinoma: A retrospective cohort study / A.C. da Silva Souto, F. Vieira Heimlich, L. Lima de Oliveira [et al.] // Oral Dis. – 2023. – Vol. 29(2). – P. 402-410.

4. Kolegova E.S. Early-onset oral cancer as a clinical entity: aetiology and pathogenesis. / E.S. Kolegova, M.R. Patysheva, I.V. Larionova // Int. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2022. – Vol. 51(12). – P. 1497-1509.

5. Vered M. Oral tongue squamous cell carcinoma: recurrent disease is associated with histopathologic risk score and young age / M. Vered, D. Dayan, A. Dobriyan [et al.] // J. Cancer Res. Clin. Oncol. – 2010. – Vol. 136(7). – P. 1039-1048.

6. Jeon J.H. Analysis of the outcome of young age tongue squamous cell carcinoma / J.H. Jeon, M.G. Kim, J.Y. Park [et al.] // Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg. – 2017. – Vol. 39(1). – P. 41.

ГЕНОМНЫЙ МОНИТОРИНГ ЗА УСТОЙЧИВЫМИ К АНТИБИОТИКАМ ESCHERICHIA COLI В РАМКАХ КОНЦЕПЦИИ «ЕДИНОЕ ЗДОРОВЬЕ»

Н.Г. Куликова, И.Н. Манзенюк, А.Е. Карпенко, А.В. Тутельян, В.Г. Акимкин

ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора

Введение

Устойчивость к противомикробным препаратам (УПП) представляет всё большую опасность для общественного здравоохранения, ветеринарии и окружающей среды по всему миру [1]. Инфекции, вызванные резистентными к антибиотикам микроорганизмами, значительно усугубляют бремя инфекций [2]. Одной из основных причин возникновения УПП является чрезмерное использование антибиотиков в первую очередь в сельском хозяйстве и в медицине [1]. Эмпирическое назначение противомикробных препаратов в здравоохранении и ветеринарии, а также применение антибиотиков для профилактики заболеваний домашнего скота в животноводстве и растений в сельском хозяйстве приводит к селекции устойчивых к антибиотикам микроорганизмов. Загрязнение окружающей среды, деградация экосистем, а также перемещение людей и животных в результате путешествий, миграции и торговых связей, способствуют распространению резистентных микроорганизмов [3].

Бездействие в вопросах контроля за применением противомикробных препаратов и эпидемиологическим надзором за распространением антибиотикоустойчивых микроорганизмами может привести к пост-антибиотиковой эре, когда люди будут умирать от обычных инфекций.

Учитывая применение большинства классов противомикробных препаратов одновременно в здравоохранении и ветеринарии, а также взаимозависимые аспекты устойчивости к антибиотикам для человека, животных и окружающей среды [3], при решении проблемы УПП в рамках четырехстороннего партнерства между Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ), Продовольственной и сельскохозяйственной Организацией Объединенных Наций (ФАО), Всемирной организацией по охране здоровья животных (МЭБ) и Программой ООН по окружающей среде (ЮНЕП) совместно была разработана концепция «Единое здоровье» («One Health»). Данная концепция представляет собой междисциплинарный подход к решению проблемы УПП, который реализуется за счет специально разработанных программ и исследовательской деятельности, охватывающей множество секторов [4 - 7].

Концепция «Единое здоровье» признает, что благополучие людей взаимозаменяемо связано с благополучием животных и окружающей среды, и наоборот [6]. В виду относительно легкого распространения устойчивых бактерий и факторов, определяющих устойчивость, между людьми, животными и окружающей средой по всему миру, действия, предпринятые или не предпринятые для сдерживания УПП в одном секторе, влияют на другие сектора [3].

Наиболее распространенной бактерией, представленной повсеместно, является *Escherichia coli*, которая является комменсальной бактерией желудочно-кишечного тракта человека и теплокровных животных. *E.coli* является санитарно-показательным микроорганизмом и одним из важнейших патогенов, который вызывает вызывает широкий спектр заболеваний: энтериты, инфекции мочевыводящих путей, сепсис и другие клинические инфекцие. *E. coli* также тесно связана с диареей у домашних и сельскохозяйственных животных. Заражение патогенной кишечной палочкой происходит при несоблюдении гигиены и санитарии, а также при употреблении контаминированной пищевой продукции, воды или при контакте с зараженными животными [8]. Распространенность изолятов *E.coli* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) растет во всем мире, главным образом, за счет распространения мобильных генетических элементов, таких как плазмиды [9].

Целью нашего исследования было изучение корреляции между клиническими изолятами *E. coli*, изолятами *E. coli* пищевого происхождения и изолятами *E. coli*, выделенными из природных экосистем.

Материалы и методы

Коллекция микроорганизмов. Объектами исследования были изоляты E.coli (n=361), депонированные в рабочую коллекцию культур микроорганизмов ФБУН Центрального НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Источниками выделения изолятов E.coli служили клинический биоматериал (n=57), пищевая продукция (n=269) и вода (n=35), собранная из различных экосистем окружающей среды.

Окончательная видовая идентификация изолятов микроорганизмов и определение их чувствительности к противомикробным препаратам проводились в Референс-центре Роспотребнадзора по мониторингу за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и Референс-центре Роспотребнадзора по мониторингу остаточного количества антибиотиков в продовольственном сырье и пищевых продуктах и антибиотикорезистентности бактерий в ФБУН Центральном НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, Российская Федерация).

Видовая идентификация и хранение изолятов микроорганизмов. Видовая идентификация бактерий была проведена методом матрично-активированной лазерной ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с применением системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass v.4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия надежной видовой идентификации на MALDI-TOF масс-спектрометрии использовали рекомендуемые значения Score ≥ 2,0. Хранение изолятов бактерий осуществляли при температуре -70°C в бульоне Мюллера-Хинтона с добавлением 10% глицерина [10].

Определение чувствительности в отношении противомикробных препаратов. Профили фенотипической чувствительности к противомикробным препаратам пищевых изолятов *E.coli* и культур,

выделенных из экосистем, проводили методом микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона с определением МПК с помощью полуавтоматического бактериологического анализатора Sensititre (TREK Diagnostics Systems, США). Инокуляция микроорганизмов проводилась с использованием 96-луночных микропланшетов с антибиотиками для грам-отрицательных микроорганизмов GN4F и RUGNF. Анализ результатов определения чувствительности изолятов *E.coli* в отношении противомикробных препаратов проводили с помощью программного обеспечения SWIN до категории согласно стандарту интерпретации CLSI (30-33-е издание, 2020-2023 гг. соответственно) и/или EUCAST (10.0-13.0, 2020-2023 гг. соответственно). Контроль качества определения чувствительности проводили на культурах *E.coli* ATCC25922 и *E.coli* ATCC35218.

Профили чувствительности к противомикробным препаратам клинических изолятов *E.coli* определяли молекулярно-генетическим методом с помощью полногеномного секвенирования (WGS). Все пациенты были проинформированы об участии в исследовании и дали своё согласие.

Определение генетических детерминант резистентности. Генетические детерминанты резистентности определяли у мультирезистентных изолятов сальмонелл с помощью полногеномного секвенирования (WGS). Экстракцию ДНК выполняли с использованием набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии», Москва). Приготовление образцов ДНК для дальнейшего секвенирования осуществляли с использованием Illumina Nextera DNA Library Prep Kit и Illumina Nextera Index Kit. Секвенирование проводили на приборе Illumina HiSeq1500 (Illumina, США) с использованием наборов реагентов Illumina HiSeq PE Rapid Cluster Kit v2 и наборов Illumina HiSeq Rapid SBS Kit v2.

Биоинформатический анализ. Сборки геномов на основе коротких прочтений были получены с помощью программы SPAdes версии 3.12 [11] с параметрами по умолчанию. Оценка качества сборки, проверка организмов и начальная аннотация выполнялись с использованием программного комплекса, описанного ранее [12]. Были определены гены устойчивости к антибиотикам *in silico* при помощи базы данных Resfinder 4.0 [13] с параметрами по умолчанию, и проведено типирование изолятов микроорганизмов с использованием схемы мультилокусного типирования последовательностей (MLST) с помощью веб-сайта Pasteur MLST (https://bigsdb.pasteur.fr/, по состоянию на 20 октября 2023 г.).

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием стандартных методов описательной статистики с помощью программы «Microsoft Office Excel 2010». Статистическую значимость различий доли резистентных культур оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при уровне значимости $\alpha < 0,05$.

Профиль устойчивости клинических изолятов *E.coli*

Всего было проанализировано 57 клинических изолятов *E.coli*. Источниками выделения бактериальных культур были абсцесс, абдоминальная жидкость, транссудат, отделяемое

дренажа, отделяемое зева и мокрота, ротовая полость и раневое отделяемое, отделяемое влагалища, отделяемое из ротовой полости, моча и цервикальный канал.

Таблица 1. Источники выделения клинических изолятов *E.coli*

Источник выделения изолята	Количество изолятов	
	абс.	%
раневое отделяемое	4	7,0
моча	13	22,8
абсцесс	1	1,8
абдоминальная жидкость	1	1,8
цервикальный канал	13	22,8
отделяемое из влагалища	5	8,8
отделяемое из ротовой полости	10	17,5
транссудат	1	1,8
отделяемое зева	2	3,5
отделяемое дренажа	1	1,8
ротовая полость	4	7,0
мокрота	2	3,5
Всего	57	100

В результате полногеномных исследований изолятов *E.coli* были выявлены маркеры резистентности к 11 группам противомикробных препаратов (рис.1). Доминирующими были детерминанты, обуславливающие резистентность к бета-лактамным антибиотикам (77,2%) и аминогликозидам (68,4%). Генотипический профиль устойчивости к бета-лактамным антибиотикам был представлен *blaCMY-2, blaCTX-M-3, blaCTX-M-14, blaCTX-M-15, blaCTX-M-27, blaCTX-M-55, blaCTX-M-82, blaCTX-M-88, blaDHA-1, blaKPC-3, blaNDM-1, blaTEM-1B, blaTEM-1C, blaTEM-1D, blaTEM-2, blaTEM-84, blaTEM-160, blaOXA-1, blaOXA-48;* к аминогликозидам – *aac(3)-IIa, aac(3)-IId, aadA1, aadA2, aadA5, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, aac(6')-Iih*, в том числе к аминогликозидам и фторхинолонам (22,2%; *aac(6')-Ib-cr*). Детерминанты, отвечающие за устойчивость к фторхинолонам (15,8%) были представлены генами *qnrB4, qnrB19, qnrS1, qnrB7, qnrB1*, к тетрациклинам (24,6%) – *tet(A), tet(B), tet(K)*, к хлорамфениколу (15,8%) – *catA1, catA2, catB3*, к азитромицину (29,6%; *mph(A)*, к сульфонамидам (38,6%; *sul1, sul2*) и триметоприму (31,6%) – *dfrA1, dfrA5, dfrA7, dfrA12, dfrA14, dfrA17*, соответственно.

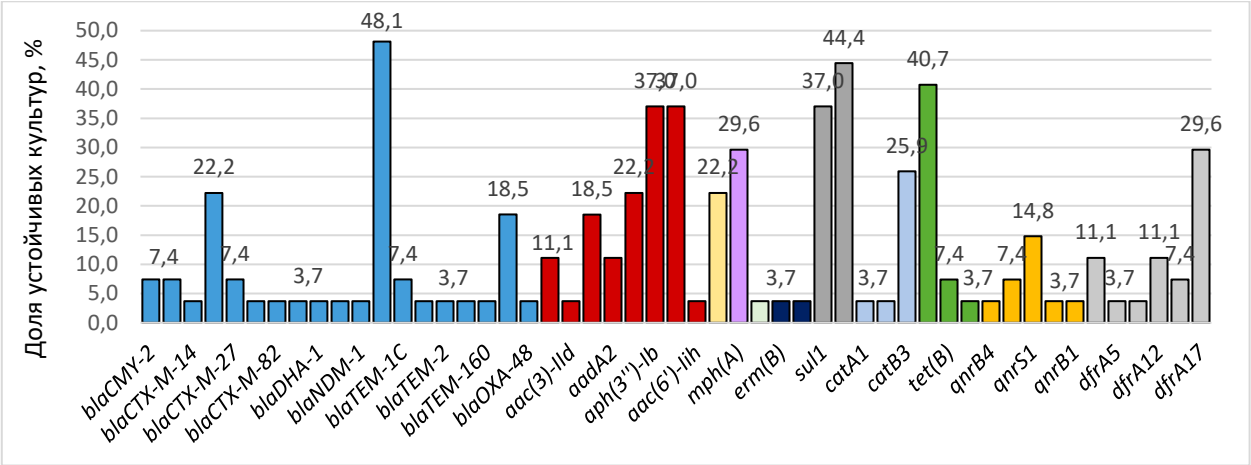


Рис. 1. Выявленные детерминанты резистентности *E.coli*, изолированной из клинического биоматериала

Анализ результатов мультилокусного секвенирования культур *E.coli* показал, что культуры принадлежали к 17 различным сиквенс-типам. Доминирующими были сиквенс-типы ST131 (19,3%), ST69 (12,3%) и ST127 (8,8%). Также были выделены сиквенс-типы ST10 и ST1193 (по 5,3%), ST761 и ST1485 (по 3,5%), а также ST38, ST95, ST73, ST141, ST1237, ST88, ST2556, ST80, ST162, ST442, ST428 (по 1,8%).

Профиль устойчивости *E.coli* пищевого происхождения

Всего было проанализировано 269 изолятов *E.coli*, выделенных из пищевой продукции. Источниками выделения бактериальных культур была птицепродукция (10,4%), мясная (7,8%), кулинарная (33,8%), кондитерская (2,2%), рыбная (1,5%) и молочная продукция (44,2%).

Анализ фенотипического профиля резистентности изученных культур показал высокую антибиотическую активность карбапенемов (97,3%), колистина (92,0%), фторхинолонов (87,5%), хлорамфеникола (85,2%), аминогликозидов (84,8%), монобактама (83,9%) и ко-тримоксазола (81,7%). Фенотипическая резистентность к пенициллинам составила 29,4%, цефалоспоринам, включая цефалоспорины III поколения, – 18,2% и тетрациклинам (14,0%).

В результате изучения фенотипического профиля резистентности *E.coli* пищевого происхождения было выявлено 57 культур с множественной резистентностью (МЛУ) к трем и более группам противомикробным препаратов. Методом полногеномного секвенирования у данных изолятов *E.coli* были выявлены гены к 10 группам противомикробных препаратов (Рис.2.). Доминирующими были гены резистентности, детерминирующие устойчивость к бета-лактамным (86,0%) и аминогликозидным (62,8%) антибиотикам. Профили генов, обуславливающие резистентность к этим группам антибиотиков, были представлены детерминантами *blaACT-14, blaADC-25, blaTEM-1A, blaOXA-50, blaCTX-M-14, blaNDM-16 и blaPAO, blaTEM-1C, blaCTX-M-15*, *blaZ, blaOXA-1*, *blaTEM-1B* и *aac(3)-IV, aph(3')-IIb, aph(4)-Ia, aadA1, aac(6')-Iaa* соответственно, в том числе к аминогликозидам и фторхинолонам (16,3%) – *aac(6')-Ib-cr*. Гены, определяющие устойчивость к тетрациклинам (67,4%), были представлены *tet(39), tet(D), tet(J), tet(B), tet(K)* и *tet(A)*; к сульфониламидам (60,5 %) и триметоприму (32,6 %) -

sul1, sul2 и *dfrA1, dfrA14, dfrA17* соответственно. Резистентность к хлорамфениколу (30,2%) была детерминирована генами *catA2, cat, catB3, floR*, к фторхинолонам (39,5%) – *qnrS1, qnrS2, qnrB19*.

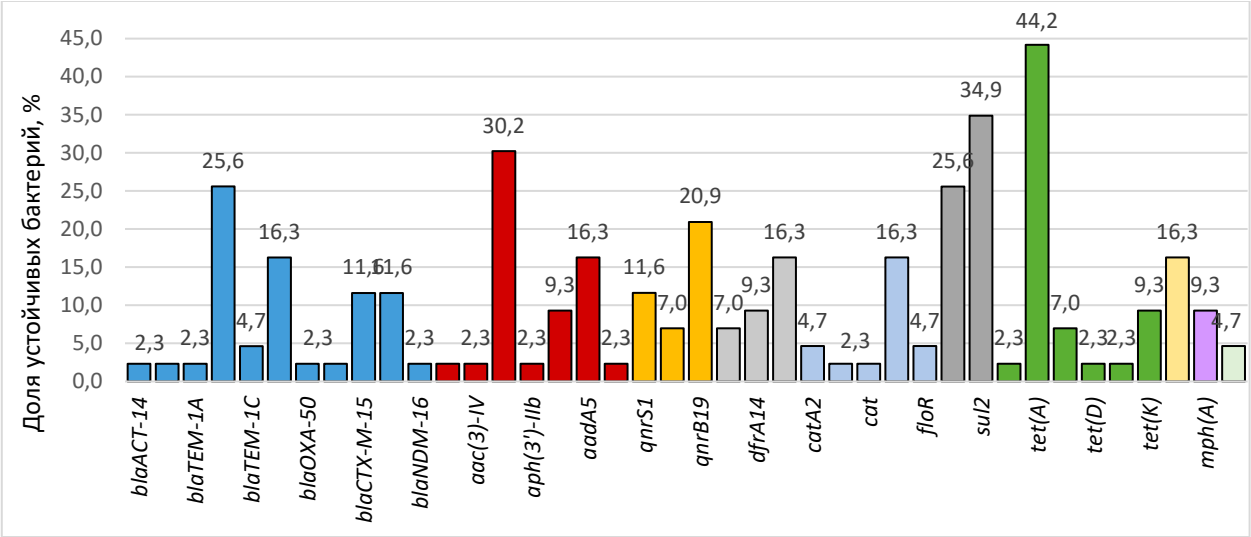


Рис.2. Гены резистентности *E.coli*, изолированной из пищевой продукции

Анализ результатов мультилокусного секвенирования МЛУ культур *E.coli* показал, что культуры принадлежали к 21 сиквенс-типу. Преобладали изоляты сиквенс-типов ST32 (11,6%), ST11 (9,3%) и ST2179 (7,0%). Также были обнаружены сиквенс-типы ST5, ST15, ST34, ST88, ST96, ST97, ST142, ST145, ST641, ST803, ST1543, ST5044 и ST5813 (по 2,3% каждый), а также ST7, ST10, ST69 и ST540 (по 4,7 % каждый).

Профиль устойчивости *E.coli*, выделенной из окружающей среды

Всего было проанализировано 35 изолятов *E.coli*, выделенных из воды питьевой из централизованных систем питьевого водоснабжения, со скважины, водопроводной, природной. Анализ фенотипического профиля резистентности изученных культур показал высокую чувствительность к карбапенемам (91,4%), колистину (96,0%), ко-тримоксазолу (80,0%), аминогликозидам (94,3%), фторхинолонам (77,1%), цефалоспоринам (65,7%) и монобактаму (64,0%). Высокая фенотипическая резистентность выявлена к хлорамфениколу (90,0%), пенициллинам (60,0%) и тетрациклинам (52,0%).

В результате изучения фенотипического профиля резистентности E.coli, изолированных из воды, было выявлено МЛУ 10 культур. Методом полногеномного секвенирования у данных изолятов E.coli были выявлены гены к 8 группам противомикробных препаратов (Рис.3.). Доминирующими были маркеры резистентности к хлорамфениколу (90,0%; *cmlA1, catB3*), бета-лактамам (70,0%; *blaCTX-M-15, blaTEM-1B, blaOXA-1*), аминогликозидам (70%; *aadA1, aadA2, aadA5*), в том числе к аминогликозидам и фторхинолонам (20,0%; *aac(6')-Ib-cr*), сульфониламидам (90,0%) и триметоприму (20,0) (*sul1, sul2* и *dfrA17* соответственно), а также тетрациклинам (20%; *tetB*).

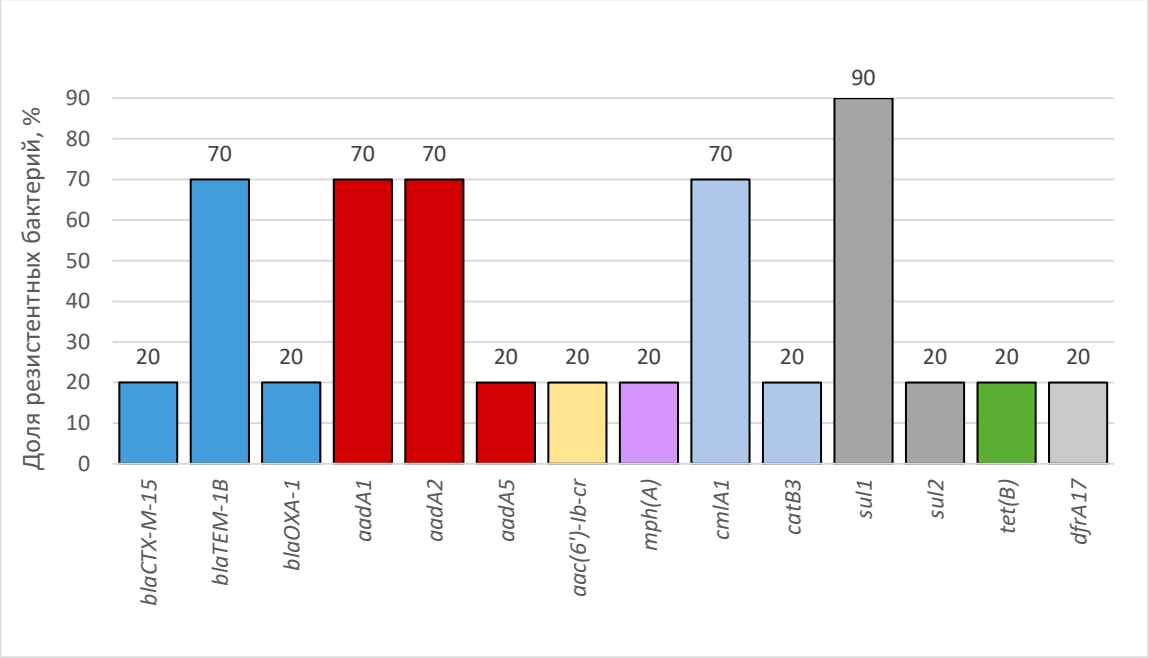


Рис.3. Гены резистентности *E.coli*, выделенной из источников окружающей среды (воды)

Анализ результатов мультилокусного секвенирования МЛУ культур E.coli показал, что культуры принадлежали к 2 сиквенс-типам ST10 (20,0%) и ST127 (80,0%).

Обсуждение

Одной из актуальных проблем концепции «Единое здоровье» является глобальное распространение *Escherichia coli*, продуцирующей бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС). Этот вопрос требует постоянного геномного эпидемиологического надзора в области здравоохранения, животноводства и окружающей среды [14]. Из-за быстрого распространения и клинического воздействия на пациентов *E. coli*, продуцирующая БЛРС, недавно была классифицирована ВОЗ как критически приоритетный патоген [14]. Согласно многочисленным данным литературы, *E.coli*, выделяющихся из различных источников, делает этот патоген потенциальным пандемическим клоном [15 - 20].

В нашем исследовании был проанализирован профиль антибиотической устойчивости у 361 изолята *E.coli*, изолированных из различных источников – клинического материала, пищевой продукции и окружающей среды. Молекулярное типирование с помощью MLST *in silico* выявило несколько пандемических линий: ST10, ST69, ST73, ST95, ST127 и ST131. Основным источником *E.coli,* продуцирующих БЛРС, являлась пищевая продукция (47,4%). В аналогичных исследованиях, проведенных в Китае, в регионе Синьцзяне, также было выявлено больше *E.coli,* продуцирующих БЛРС, в пищевой продукции (26,0%) по сравнению с клиническим материалом (3,5%) [15].

Клоны высокого риска ST10 были выявлены во всех трех источниках выделения *E.coli:* клиническом биоматериале (5,3%), пищевой продукции (4,7%) и окружающей среде (20,0%). Полученные нами результаты согласуются с данными литературы [17, 21, 22]. Изоляты *E.coli* клональной линии ST127 в нашем исследовании были выделены из кубитального катетера и

питьевой воды. Согласно источникам литературы, E.coli ST127 представляет собой пандемическую линию, принадлежащую к семейству внекишечных патогенов человека и домашних животных с высоковирулентным геноносительством [19, 23]. Известно о выявлении изолятов ST127 в образцах слюны домашних животных [20], китов, летучих мышей из Конго и, аналогично наши данным, воде [24].

Выявленные одновременно в клиническом биоматериале и пищевой продукции клональные линии изолятов *E.coli* ST69 и ST88 ответственные за инфекции кровотока у человека [19] и крупного рогатого скота и домашней птицы [25] указывает на вероятность попадания этих изолятов в организм человека через пищевую цепочку.

Заключение

Таким образом, выявление одних и тех же клональных комплексов множественно лекарственно устойчивых *E.coli*, продуцирующих БЛРС, из различных источников выделения (клинического биоматериала, пищевой продукции и окружающей среды) указывает на взаимозависимость здоровья людей, животных и окружающей их среды. В связи с этим, важно проводить непрерывный геномный мониторинг клональных линий бактериальных патогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAO. 2021. *The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2021–2025*. Rome.https://doi.org/10.4060/cb5545en
2. Приоритизация патогенов как ориентир для поиска, научного исследования и разработки новых антибиотиков для лечения инфекций, вызванных лекарственно-резистентными бактериями, включая туберкулез [Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2021. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
3. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. Microbiol Spectr. 2018 Mar;6(2). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017. PMID: 29600770.
4. Chakraborty S, Andrade FCD, Smith RL. An Interdisciplinary Approach to One Health: Course Design, Development, and Delivery. J Vet Med Educ. 2022 Oct;49(5):568-574. doi: 10.3138/jvme-2021-0021. Epub 2021 Aug 5. PMID: 34351842.
5. Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. Antiviral Res. 2010 Feb;85(2):328-45. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.10.008. Epub 2009 Oct 24. PMID: 19857523; PMCID: PMC2815176.
6. Horefti E. The Importance of the One Health Concept in Combating Zoonoses. Pathogens. 2023 Jul 26;12(8):977. doi: 10.3390/pathogens12080977. PMID: 37623937; PMCID: PMC10460008.
7. Bordier M, Binot A, Pauchard Q, Nguyen DT, Trung TN, Fortané N, Goutard FL. Antibiotic resistance in Vietnam: moving towards a One Health surveillance system. BMC Public Health. 2018 Sep 24;18(1):1136. doi: 10.1186/s12889-018-6022-4. PMID: 30249210; PMCID: PMC6154809.
8. ВОЗ. 2017. Бремя болезней пищевого происхождения в Европейском регионе ВОЗ.

9. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. Escherichia coli in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health. 2013 Nov 25;10(12):6235-54. doi: 10.3390/ijerph10126235. PMID: 24287850; PMCID: PMC3881111.

10. Похиленко В. Д. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития / В. Д. Похиленко, А. М. Баранов, К. В. Детушев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – № 4 (12). – С. 99–121.
11. Bankevich, A.; Nurk, S.; Antipov, D.; Gurevich, A.A.; Dvorkin, M.; Kulikov, A.S.; Lesin, V.M.; Nikolenko, S.I.; Pham, S.; Prjibelski, A.D., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol 2012, 19, 455-477 doi:10.1089/cmb.2012.0021.
12. Shelenkov A, Mikhaylova Y, Yanushevich Y, Samoilov A, Petrova L, Fomina V, Gusarov V, Zamyatin M, Shagin D, Akimkin V. Molecular Typing, Characterization of Antimicrobial Resistance, Virulence Profiling and Analysis of Whole-Genome Sequence of Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates. Antibiotics (Basel). 2020 May 17;9(5):261. doi: 10.3390/antibiotics9050261. PMID: 32429555; PMCID: PMC7277670.
13. Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, Aarestrup FM, Larsen MV. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. J Antimicrob Chemother. 2012 Nov;67(11):2640-4. doi: 10.1093/jac/dks261. Epub 2012 Jul 10. PMID: 22782487; PMCID: PMC3468078.
14. Cardenas-Arias AR, Sano E, Cardoso B, Fuga B, Sellera FP, Esposito F, Aravena-Ramírez V, Huaman DC, Gonzales CD, Espinoza LL, Hernández LM, Lincopan N. Genomic data of global clones of CTX-M-65-producing Escherichia coli ST10 from South American llamas inhabiting the Andean Highlands of Peru. J Glob Antimicrob Resist. 2023 Dec 10;36:135-138. doi: 10.1016/j.jgar.2023.11.011. Epub ahead of print. PMID: 38072242.
15. Wu Y, Huang S, Zhang D, Ji H, Ni Y, Zhang X, Dong J, Li B. Characteristics of Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Derived from Food and Humans in Northern Xinjiang, China. Foodborne Pathog Dis. 2023 Jul;20(7):270-278. doi: 10.1089/fpd.2022.0061. Epub 2023 Jun 28. PMID: 37379472.
16. Puljko A, Babić I, Rozman SD, Barišić I, Jelić M, Maravić A, Parać M, Petrić I, Udiković-Kolić N. Treated municipal wastewater as a source of high-risk and emerging multidrug-resistant clones of E. coli and other Enterobacterales producing extended-spectrum β-lactamases. Environ Res. 2023 Dec 2;243:117792. doi: 10.1016/j.envres.2023.117792. Epub ahead of print. PMID: 38048868.
17. Misumi W, Magome A, Okuhama E, Uchimura E, Tamamura-Andoh Y, Watanabe Y, Kusumoto M. CTX-M-55-type ESBL-producing fluoroquinolone-resistant Escherichia coli sequence type 23 repeatedly caused avian colibacillosis in Kagoshima Prefecture, Japan. J Glob Antimicrob Resist. 2023 Dec;35:325-331. doi: 10.1016/j.jgar.2023.10.015. Epub 2023 Oct 31. PMID: 37918785.
18. Cave R, Ter-Stepanyan MM, Kotsinyan N, Mkrtchyan HV. An Emerging Lineage of Uropathogenic Extended Spectrum β-Lactamase Escherichia coli ST127. Microbiol Spectr. 2022 Dec 21;10(6):e0251122. doi: 10.1128/spectrum.02511-22. Epub 2022 Nov 23. PMID: 36416548; PMCID: PMC9769692.
19. Mills EG, Martin MJ, Luo TL, Ong AC, Maybank R, Corey BW, Harless C, Preston LN, Rosado-Mendez JA, Preston SB, Kwak YI, Backlund MG, Bennett JW, Mc Gann PT, Lebreton F. A one-year genomic investigation of Escherichia coli epidemiology and nosocomial spread at a large US healthcare network.

Genome Med. 2022 Dec 30;14(1):147. doi: 10.1186/s13073-022-01150-7. PMID: 36585742; PMCID: PMC9801656.

20. McEvoy N, O'Connor A, McDonagh F, Lonappan AM, Farrell ML, Kovarova A, Burke L, Ryan K, Hallahan B, Miliotis G. Complete genome of an inhibitor-resistant blaTEM-30 encoding Escherichia coli sequence type 127 isolate identified in human saliva with a high genotypic virulence load. J Glob Antimicrob Resist. 2023 Dec;35:44-47. doi: 10.1016/j.jgar.2023.08.014. Epub 2023 Aug 27. PMID: 37643688.
21. Wang CZ, Li XP, Zhang YJ, Zhong WC, Liu YH, Liao XP, Sun J, Zhou YF. Molecular characteristic of mcr-1 gene in Escherichia coli from aquatic products in Guangdong, China. J Glob Antimicrob Resist. 2023 Dec 10;36:36-40. doi: 10.1016/j.jgar.2023.11.010. Epub ahead of print. PMID: 38072241.
22. Puljko A, Babić I, Rozman SD, Barišić I, Jelić M, Maravić A, Parać M, Petrić I, Udiković-Kolić N. Treated municipal wastewater as a source of high-risk and emerging multidrug-resistant clones of E. coli and other Enterobacterales producing extended-spectrum β-lactamases. Environ Res. 2023 Dec 2;243:117792. doi: 10.1016/j.envres.2023.117792. Epub ahead of print. PMID: 38048868.
23. Cave R, Ter-Stepanyan MM, Kotsinyan N, Mkrtchyan HV. An Emerging Lineage of Uropathogenic Extended Spectrum β-Lactamase Escherichia coli ST127. Microbiol Spectr. 2022 Dec 21;10(6):e0251122. doi: 10.1128/spectrum.02511-22. Epub 2022 Nov 23. PMID: 36416548; PMCID: PMC9769692.
24. Elankumaran P, Browning GF, Marenda MS, Reid CJ, Djordjevic SP. Close genetic linkage between human and companion animal extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* ST127. Curr Res Microb Sci. 2022 Jan 23;3:100106. doi: 10.1016/j.crmicr.2022.100106. PMID: 35128493; PMCID: PMC8803956.
25. Day MJ, Rodríguez I, van Essen-Zandbergen A, Dierikx C, Kadlec K, Schink AK, Wu G, Chattaway MA, DoNascimento V, Wain J, Helmuth R, Guerra B, Schwarz S, Threlfall J, Woodward MJ, Coldham N, Mevius D, Woodford N. Diversity of STs, plasmids and ESBL genes among Escherichia coli from humans, animals and food in Germany, the Netherlands and the UK. J Antimicrob Chemother. 2016 May;71(5):1178-82. doi: 10.1093/jac/dkv485. Epub 2016 Jan 23. PMID: 26803720.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

В. А. Лубова

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

Аннотация. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) является возбудителем смертельно-опасного для человека заболевания. В настоящее время описаны пять генотипов этого вируса, из которых три – европейский, сибирский и дальневосточный – имеют важное эпидемическое значение. *Цель работы* – изучить молекулярно-генетическую структуру штаммов ВКЭ, циркулирующих на территории Приморского края. *Материалы и методы.* Для исследования были взяты 22 штамма ВКЭ из коллекции патогенных микроорганизмов ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора. Многократное прочтение последовательностей проводили методом нанопорового секвенирования. *Результаты и обсуждение.* Были определены нуклеотидные последовательности 22 штаммов ВКЭ. Филогенетический анализ выявил принадлежность штаммов к дальневосточному генотипу и двум генетическим подгруппам - Oshima и Sofjin.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, секвенирование, филогенетический анализ.

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ, *Orthoflavivirus encephalitidis*) относится к роду *Orthoflavivirus* семейства *Flaviviridae*. [1]. Ареал ВКЭ включает умеренный климатический пояс Северной Евразии в пределах ареалов основных переносчиков этого вируса: *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus*. У людей ВКЭ может вызывать тяжелые поражения нервной системы и приводить к неврологическим осложнениям с летальными исходами [2, 3, 4]. Современная классификация ВКЭ, основанная на филогенетическом анализе последовательностей генома, выделяет три основных генотипа: дальневосточный (TBEV-FE), европейский (TBEV-Eu) и сибирский (TBEV-Sib) [5, 6]. Помимо трех основных, известных генотипов КЭ, на сегодняшний день, установлена циркуляция еще двух новых генотипов – TBEV-Bkl, состоящий из 13 штаммов, идентифицированных в Восточной Сибири и северной Монголии [7, 8]. Второй - гималайский генотип (TBEV–Him), недавно обнаружен у диких грызунов *Marmota himalayana* на плато Цинхай-Тибет в Китае [9]. Впервые в мире вирус КЭ (штамм Sofjin) был изолирован на территории Приморского края в 1937 г., а в 1990 г. проведено его полногеномное секвенирование. Штамм Sofjin по мере накопления молекулярно-генетических данных на разных

территориях Евразийского континента считается эталонным для группы штаммов ВКЭ дальневосточного генотипа [10].

ВКЭ представляет собой икосаэдрический капсид, окружённый сферической липопротеиновой оболочкой диаметром 45-60 нм. Капсид включает несегментированную одноцепочечную РНК положительной полярности длиной примерно 11 тыс. пар нуклеотидов. Вирусная РНК состоит из двух нетранслируемых областей (НТО) на 5'- и 3'-концах и открытой рамки считывания (ОРС). Длина 5’-НТО составляет около 130 нуклеотидов и содержит кэп I типа (m-7GpppAmp), за которым следуют два консервативных динуклеотида AG. Длина 3'-НТО может варьироваться от 450 до 800 нуклеотидов и может содержать внутренний полиаденилированный участок [11, 12]. НТО вирусной РНК создают вторичные структуры, которые участвуют в качестве цис-регуляторных элементов в репликации, трансляции и сборке вирусных частиц. ОРС состоит из 10 различных белков, структурных (C, prM и E) и семи неструктурных (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, и NS5). Белок C (92 а.о.) формирует нуклеокапсид, поверхностные белки M (75 а.о.) и E (496 а.о.) вместе с NS1-5 принимают участие в связывании с клеточными рецепторами при проникновении в клетку-мишень, являются медиаторами слияния клеточной и вирусной мембран, а также целью для большинства вирус-нейтрализующих антител [13, 14].

Перечисленные генетические конструкции определяют фенотипические и генотипические свойства вириона ВКЭ. Подробное изучение нуклеотидных последовательностей вирусного генома позволяет проводить, как генотипирование, так и выявление генетического полиморфизма ВКЭ. Несмотря на высокую эпидемиологическую значимость ВКЭ, генетическое разнообразие и филогенетические связи этого вида изучены недостаточно. Вопросы эволюции ВКЭ до настоящего времени остаются открытыми.

Цель работы: изучить молекулярно-генетическую структуру штаммов ВКЭ, циркулирующих на территории Приморского края.

Материалы и методы. Для исследования были взяты 22 штамма из коллекции патогенных микроорганизмов ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, выделенные на территории Приморского края. В работе использовали 10% вирусную суспензию, полученную при интрацеребральном заражении 2-дневных аутбредных мышей (линия CD-1). Выделение суммарной РНК из 10% суспензии мозга заражённых мышей проводили с использованием комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия) согласно инструкции производителя. Получение кДНК, соответствующих фрагментов генома ВКЭ, проводили методом обратной транскрипции (ОТ) с применением наборов “Реверта L” в соответствии с инструкциями изготовителя (AmpliSens, Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с «горячим стартом» проводили с использованием коммерческого набора БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) («Биолабмикс», Новосибирск). Образцы

амплифицированных фрагментов кДНК визуализировали в 1,5% агарозном геле. Далее выполняли баркодирование полученных ампликонов с использованием набора Rapid Barcoding Kit 96 (SQK-RBK110.96). Очистку ПЦР-продукта проводили на магнитных частицах AMPure XP beads (Nanopore). После подготовки геномной бибилиотеки, образцы секвенировали на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies) с использованием ячеек FLO-MIN106 R9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies). Подбор видоспецифичных олигонуклеотидов для секвенирования производили на основе многократного выравнивания референсных нуклеотидных последовательностей в программе Mega v.7.0 (PSU, США). Последовательности для работы были взяты из международной базы данных GenBank. После чего на сервере BlastN (National Center for Biotechnology Information, США) производили проверку олигонуклеотида на наличие палиндромов, образование возможных вторичных шпилечных структур, процент GC-оснований и рассчитывали термодинамические свойства праймера. Было подобрано 20 пар видоспецифичных олигонуклеотидов считывающих участки генома длиной около 600 п.н., перекрывающихся между собой. Полученные в ходе секвенирования данные бейсколировали, сборку генома проводили путем выравнивания с референсной последовательностью с использованием программных пакетов Epi2me v.22 и UGENE v.49.1. Последующий филогенетический анализ проводили методом ближайших соседей.

Результаты исследования. Для проведения исследования в работу были взяты 22 штамма вируса КЭ из коллекции института, выделенные и заложенные в коллекцию с 1977 по 2023 гг., ранее не секвенированные. Источником выделения образцов послужили иксодовые клещи, мелкие грызуны, а также биологический материал, полученный от людей с диагнозом КЭ. Проведение ПЦР-РВ показало высокую видоспецифичность сконструированных праймеров (рис. 1).

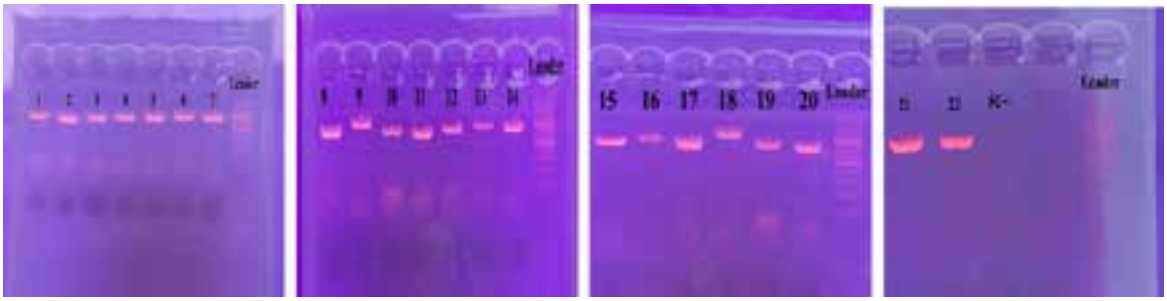


Рисунок 1. Результаты электрофореза кДНК штаммов выделенных на территории Приморского края с сконструированными праймерами (штамм Primorye-20n)

После нанопорового секвенирования и анализа «сырых» данных, были получены консенсусные нуклеотидные последовательности 22 штаммов ВКЭ, которые прошли депонирование в базы данных VGARus и находятся в процессе депонирования в GenBank. Для

проведения филогенетического анализа полученных последовательностей были также использованы нуклеотидные последовательности ряда штаммов ВКЭ, исследованных ранее на территории юга российского Дальнего Востока в период 1958-2010 гг., в том числе и из вирусной коллекции ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, а так же прототипные штаммы дальневосточного генотипа: ВКЭ/Sofjin-1953 (KU761576), ВКЭ/Senzhang **(**JQ650523), ВКЭ/Oshima-5-10 (AB062063). В качестве внешней референс-последовательности был использован другой представитель семейства Flaviviridae - вирус Омской геморрагической лихорадки (OHFV) (*Orthoflavivirus omskense*, род *Orthoflavivirus*). Филогенетическое дерево строили методом ближайших соседей (Neighbor-Joining) с числом бутстреп-репликаций 1000. Оценка количества нуклеотидных замен по методу p-distance показала принадлежность исследованных штаммов к дальневосточному генотипу ВКЭ, который широко распространен на территории Приморского края. Дальнейший анализ дендрограммы выявил принадлежность впервые отсеквенированных штаммов к двум генетическим группам: Oshima (Pr-635, Spassk-472, Pr-37m, Pr-344, Pr-2212, Pr-270-99, Pr-374-99, Pr-4152), Sofjin (Pr-653, Pr-119, Pr-2701, Pr-814, Pr-467, Pr-28, Pr-651, Pr-4202, Pr-20n, Pr-336, Pr-371, Pr-458, Pr-124, Pr-135) (рис. 2).

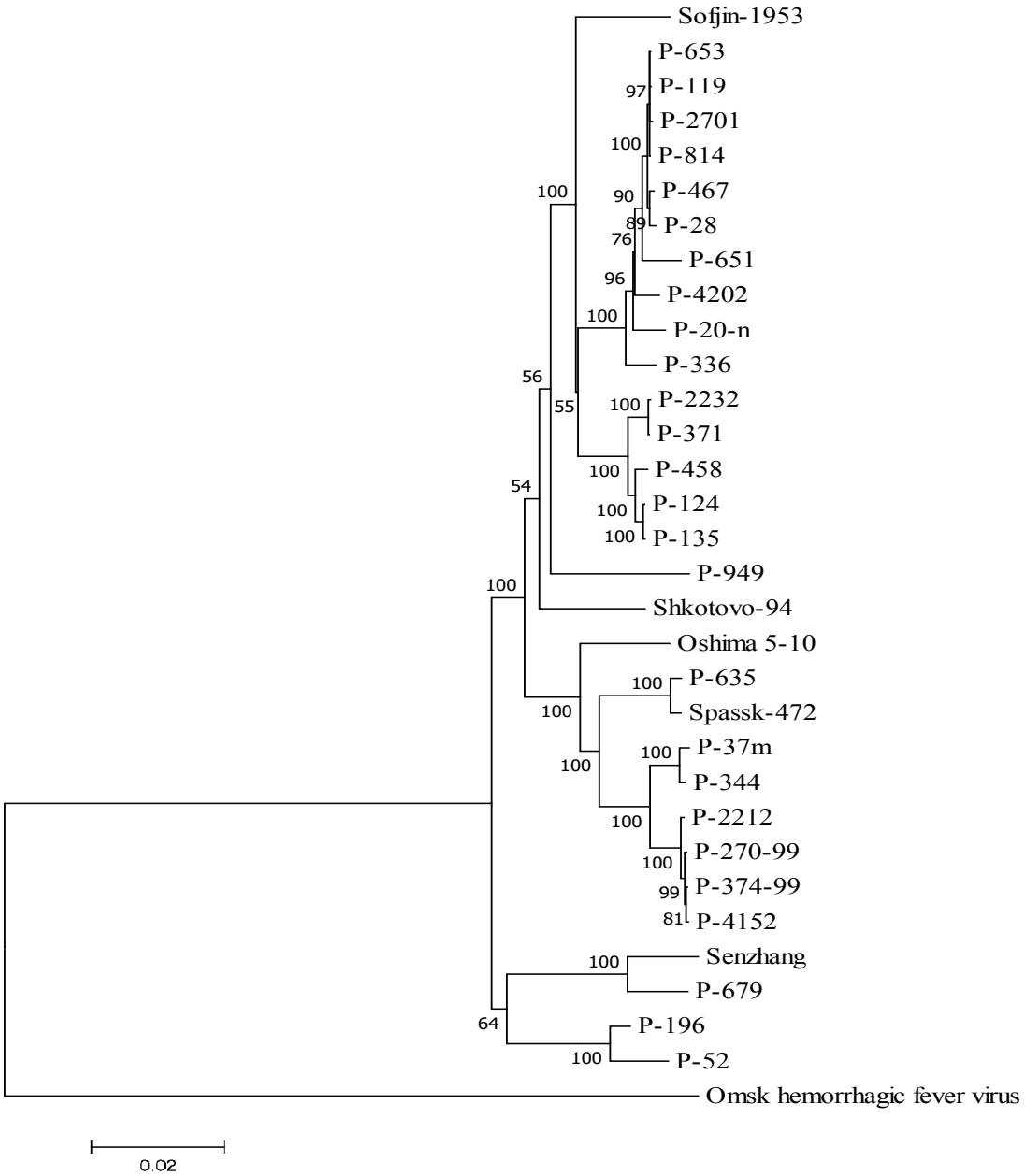


Рисунок 2. Филогенетический анализ штаммов ВКЭ, построенный с использованием метода Neighbor-Joining на основе кодирующей части полногеномных последовательностей. Эволюционные расстояния были рассчитаны с использованием двухпараметрического метода Кимуры и выражены в единицах количества замен оснований на сайт. В анализе приняли участие 32 нуклеотидные последовательности. В узлах ветвей указаны значения бутстреп-поддержки. В качестве внешней группы использован представитель семейства Flaviviridae - вирус Омской геморрагической лихорадки (OHFV) (*Orthoflavivirus omskense*, род *Orthoflavivirus*). Эволюционный анализ проводился в программе Mega v.7.0.

В последние три десятилетия циркуляция ВКЭ остается серьезной проблемой для здравоохранения, появляются новые эндемичные территории, расширяется круг переносчиков, выявляются ранее не известные генотипы имеющие новые свойства и особенности. Широкое

внедрение в лабораторную практику методов молекулярно-генетического анализа и расшифровка геномов штаммов ВКЭ стали важнейшим этапом в изучении его внутривидовых различий. Накопленный к настоящему времени массив информации требует продолжения изучения генетической структуры этого вируса, механизмов ее фенотипической экспрессии и закономерностей циркуляции ВКЭ в природе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zerbini F. M., Siddell S. G., Lefkowitz E. J. et al. Changes to virus taxonomy and the ICTV Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses // Arch Virol. – 2023. - N168 (7). - P 175. . DOI: https://doi.org/10.1007/s00705-023-05797-4

2. Коренберг Э. И., Помелова В. Г., Осин Н. С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. - Под ред.: Гинцбурга А. Л., Злобина В. Н. - М: Наука, 2013. - 463 с.

3. Леонова Г. Н. Клещевой энцефалит: актуальные аспекты. - М: Издатель И. В. Балабанов, 2009. - 168 с.

4. Леонова Г. Н. Клещевой энцефалит в Дальневосточном очаговом регионе евразийского континента // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. - N97(2). – С. 150–158. DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-150-158

5. Ecker M., Allison S. L., Meixner T., Heinz F. X. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia // J Gen Virol. – 1999. – Vol. 80(Pt 1). – P. 179-185.

6. Gould E. A., de Lamballerie X., Zanotto P. M., Holmes E. C. Evolution, epidemiology, and dispersal of flaviviruses revealed by molecular phylogenies // Adv Virus Res. – 2001. – Vol.57. – P. 71-103.

7. Kozlova I. V., Demina T. V., Tkachev S. E. et al. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus circulating in Eastern Siberia // Acta Biomed Sci. – 2018. – N 3. – P. 53–60.

8. Kovalev S. Y., Mukhacheva T. A. Reconsidering the classification of tick-borne encephalitis virus within the Siberian subtype gives new insights into its evolutionary history // Infect. Genet. Evol. – 2017. – N 55. – P. 159–165.

9. Dai X., Shang G., Lu S., Yang J., Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China // Emerg. Microbes Infect. – 2018. – N 7. – P. 74.

10. Pletnev A. G., Yamshchikov V. F., Blinov V. M. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus // Virology. – 1990. - N174(1). – P. 250–263.

11. Grard G., Moureau G., Charrel R. N. et al. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: new insights into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy // Virology. – 2007. – Vol.361.– № 1. – P. 80-92.

12. Gritsun T. S., Lashkevich V. A., Gould E. A. Tick-borne encephalitis // Antiviral Res. – 2003. – Vol. 57. – N1-2. – P. 129-146.

13. Füzik T., Formanová P., Růžek D. et al. Structure of tick-borne encephalitis virus and its neutralization by a monoclonal antibody // Nat. Commun. – 2018. – N9(1). – P. 436.

14. Pulkkinen L. I. A., Butcher, S. J., Anastasina M. Tick-Borne Encephalitis Virus: A Structural View // Viruses/ - 2018. - N 10. – P. 350.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАГЕНОМНОГО И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЕЙ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, РОДИВШИХСЯ ОТ МАТЕРЕЙ С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Л.А. Харитонова, Т. А. Маяцкая

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1

Аннотация

***Обоснование*:** изменения метаболизма во время беременности у женщин с гестационным сахарным диабетом провоцируют развитие ряда осложнений у потомства, которые не ограничиваются периодом новорожденности. Нарушения углеводного и липидного обменов матери оказывают негативное воздействие на формирование микробиома кишечника (МК) у ребенка и как следствие на его соматическое здоровье. Изучение состояния микробиоты кишечника у данной когорты детей позволит выявить эти закономерности.

***Цель исследования*:** совершенствовать знания о закономерностях формирования микробиома кишечника у детей, родившихся от матерей с гестационным сахарным диабетом (ГСД), путем изучения его видового состава для определения влияния микрофлоры кишечника на формирование метаболических нарушений у данной когорты детей.

***Материалы и методы исследования*:** исследование проводилось с 2017 по 2021 гг. на базе на базе родильного дома и педиатрического отделения при ГБУЗ ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ и ГБУЗ ДГП № 122 ДЗМ. Обследовано 494 ребенка, которые наблюдались ежегодно с рождения до 3 лет. Дети были разделены на две группы: I группа – 399 детей, рожденных от матерей с ГСД. II группа — 95 детей, рожденных от матерей без ГСД, контрольная группа (КГ). Всем детям выполнялись: сбор анамнеза, общеклинические, стандартные лабораторные и инструментальные исследования. Для оценки микробиома кишечника использовали стандартный бактериологический анализ кала, комплексное копрологическое исследование, биохимическое исследование кала, метод NGS секвенирования 16S рРНК МК. За меру дисбиоза кишечника был принят индекс Шеннона. Результаты исследований регистрировались на индивидуальных картах с их кодированием для дальнейшей статистической обработки с использованием программных пакетов Statistica 8.0. и MS OfficeExcel 2010.

***Результаты*:** у детей, рожденных от матерей с ГСД, выявлено высокое разнообразие условно-патогенной флоры с потенциально патогенными свойствами и сапрофитов. Данный дисбиоз сохраняется с рождения до 3 лет, в отличие от детей контрольной группы, где становление микробиома происходит по всем законам здорового кишечного микробиома. Метаболический профиль микробиома кишечника детей от матерей с ГСД в раннем возрасте отличается высокой

протеолитической активностью за счет условно-патогенной и патогенной флоры (Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria), в отличие от детей от контрольной группы (индигенные представители Firmicutes и Actinobacteria).

***Заключение*:** у детей, рожденных от матерей с ГСД, отмечается наиболее неустойчивая и некачественная система взаимосвязи микробиома с макроорганизмом, разрозненные пути метаболизма. Несмотря на это выявляются аналогичные механизмы регуляции микробного сообщества кишечника как у детей из КГ, но за счет видового разнообразия на фоне формирующегося дисбиоза. Наличие кишечного дисбиоза может негативно влиять на дальнейший рост и развитие детей, рожденных от матерей с ГСД, начиная от нарушения процессов переваривания и всасывания, заканчивая развитием метаболического синдрома.

Ключевые слова: микробиом кишечника, гестационный сахарный диабет, дети раннего возраста.

FEATURES OF METAGENOMIC AND METABOLIC PROFILES OF THE GUT MICROBIOME IN YOUNG CHILDREN BORN TO MOTHERS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS

L.A. Kharitonova[1], T. A. Mayatskaya[1]

[1]FSAEI HE Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ostrovityanova str., d1, Moscow, 117997 Russian Federation

Abstract

Background: changes in metabolism during pregnancy in women with gestational diabetes provoke the development of a number of complications in the offspring, which are not limited to the period of newborn. Disorders of carbohydrate and lipid metabolism of the mother have a negative impact on the formation of the intestinal microbiome (IM) in the child and, as a result, on his somatic health. Studying the state of the gut microbiota in this cohort of children will reveal these patterns.

Aims: improve knowledge about the patterns of gut microbiome formation in children born to mothers with gestational diabetes mellitus (GSD) by studying its species composition to determine the effect of intestinal microflora on the formation of metabolic disorders in this cohort of children.

Materials and methods: the study was conducted from 2017 to 2021. on the basis of a maternity hospital and a pediatric department at GBUZ GKB No. 29 named after N.E. Bauman DZM and GBUZ PDH No. 122 DZM. 494 children were examined, who were observed annually from birth to 3 years old. The children were divided into two groups: Group I - 399 children born to mothers with GDM. Group II: 95 children born to mothers without GDM, control group (CG). All children underwent:

history collection, general clinical, standard laboratory and instrumental studies. Standard bacteriological analysis of feces, complex scatological and feces carbohydrates, biochemical study of feces, NGS sequencing method of 16S rRNA of the intestinal microbiome. The Shannon Index was taken as a measure of intestinal dysbiosis. The results of the studies were recorded on individual maps with their coding for further statistical processing using Statistica 8.0 software packages. и MS OfficeExcel 2010.

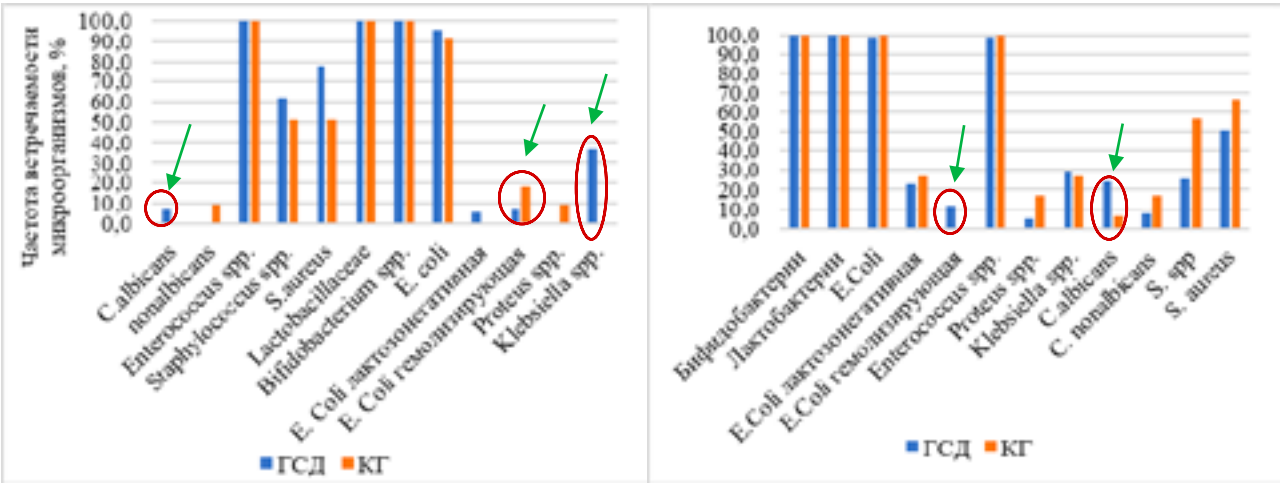
Results: children born to mothers with GDM showed a high diversity of opportunistic flora with potentially pathogenic properties and saprophytes. This dysbiosis persists from birth to 3 years, unlike children of the control group, where the formation of the microbiome occurs according to all the laws of a healthy intestinal microbiome. The metabolic profile of the gut microbiome of children from mothers with GDM at an early age is characterized by high proteolytic activity due to opportunistic and pathogenic flora (Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria), in contrast to children from the control group (indigenic representatives of Firmicutes and Actinobacteria).

Conclusions: in children born to mothers with GDM, the most unstable and poor-quality system of the relationship of the microbiome with the macrobody, disparate metabolic pathways are noted. Despite this, similar mechanisms of regulation of the gut microbial community are revealed as in children from CG, but due to species diversity against the background of emerging dysbiosis. The presence of intestinal dysbiosis can negatively affect the further growth and development of children born to mothers with GDM, ranging from impaired digestion and absorption processes to the development of metabolic syndrome.

Keywords: intestinal microbiome, gestational diabetes mellitus, young children.

Результаты исследования и их обсуждение

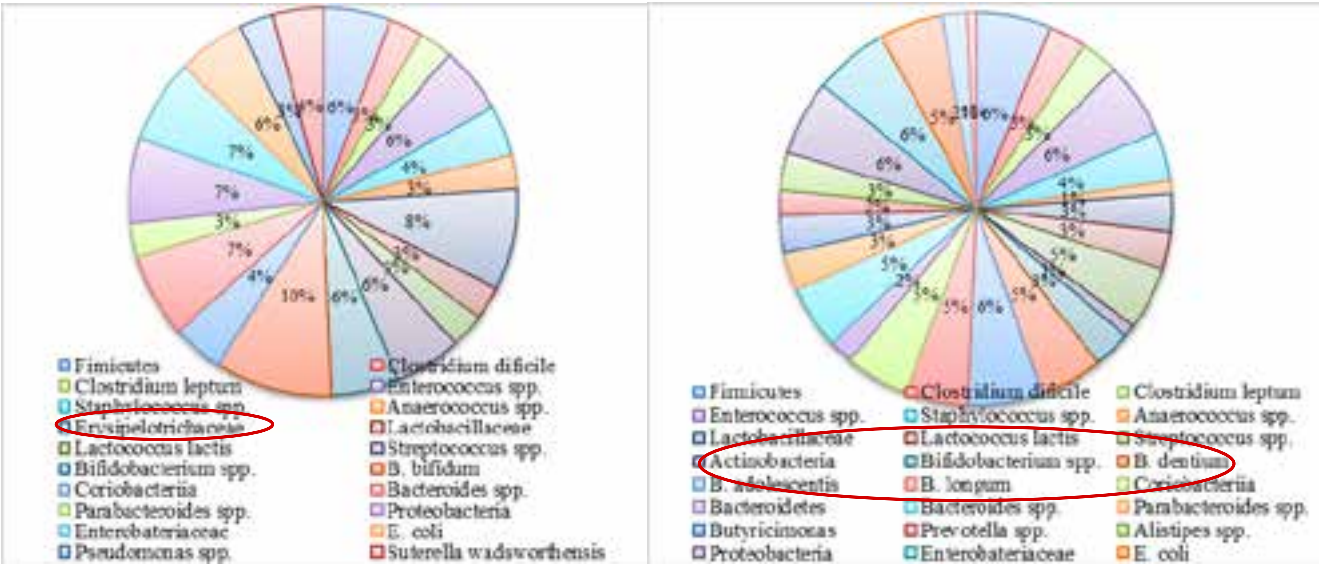
В ходе исследования была определена картина становления микроорганизмов в кишечнике у новорожденных от матерей с ГСД. Так, у новорожденных от матерей с ГСД микроорганизмы начинают активно заселять кишечник только на 2-е сутки жизни, в отличие от КГ, где процесс заселения начинается с 1-го дня жизни (ГСД 0 - 0,0%; КГ 8 - 24,2%; $p < 0,01$). Но к 5-му дню жизни показатели заселения кишечника микроорганизмами сравниваются. В связи с чем представляло интерес изучить качественный и количественный состав микробиома кишечника у исследуемых групп детей разными методами (рис. 1 и 2).



1a 1b

Рисунок 1. Микрофлора кишечника стандартным бактериологическим методом у новорожденных (a) и детей 1-3 лет (b), исследуемых групп

При проведении стандартного бактериологического метода у новорожденных от матерей с ГСД (рис. 1) достоверно значимо ($p < 0,01$) были выявлены возбудители кандидоза - Candida albicans и прямые антагонисты лактобактерий - Klebsiella spp. в отличие от КГ, где происходит гармоничное становление МК [2]. Такие соотношения в МК сохранялись до 3 лет, что подтвердило высказанное нами ранее предположение, что у детей родившихся от матерей с ГСД формируется патологический микробиом кишечника. Однако стандартным бактериологическим методом возможно определить только около 20% микроорганизмов от всего микробиома, заселяющего кишечник. Видовой состав не только культивируемой, но и некультивируемой МК позволяет определить метод NGS секвенирования 16S рРНК (ис. 2 и 3).



2a 2b

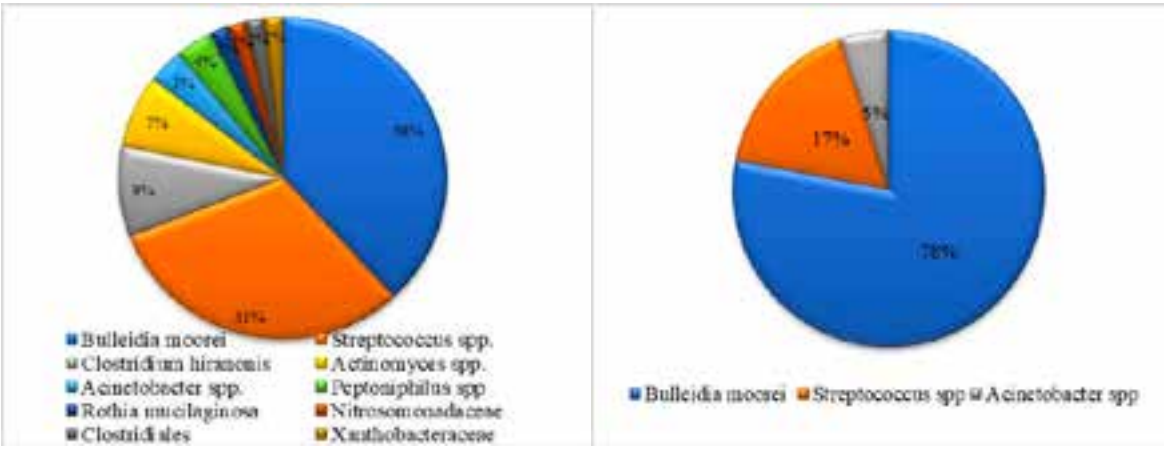
Рисунок 2. Состояние микрофлоры кишечника методом секвенирования 16S рРНК у новорожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом (a), новорожденных КГ (b)

Согласно результатам NGS секвенирования 16S рРНК (Рисунок 2) в 1-й день жизни МК у детей от матерей с ГСД, в отличие от КГ, характеризуется обеднением типа Actinobacteria (5 – 7,4%; 7 - 21,2%; соответственно, p=0,04) и рода бактерий Bifidobacterium spp. (29 - 42,6%; 24 - 72,7%; p=0,004). При этом в КГ выявлен микробиологический пейзаж, характерный для нормального биоценоза у новорожденных: B. Dentium (3-9,1%; 4,9 LgKOE/г), B. Adolescentis (9-27,3%; 6,2 LgKOE/г), B. Longum (6-18,2%; 4,9 LgKOE/г). Интенсивность колонизации кишечника была ниже у детей из группы ГСД, чем в КГ для Lactobacillaceae, Enterococcus spp, Staphylococcus spp., Anaerococcus spp преобладающие в норме в первые сутки после рождения. Что подтверждает снижение темпов заселения микробиома кишечника у детей данной группы в первые сутки после рождения ребенка.

На 2-й день жизни и у новорожденных от матерей с ГСД и в КГ выявлен равнозначный рост E. Coli, встречающийся на данном этапе становления МК в норме. Вероятно, за счет роста E. Coli в данный период происходит выравнивание показателей заселения кишечника у детей от матерей с ГСД ко 2-му дню жизни.

К 5-му дню жизни у здоровых детей МК должен быть широко представлен уже не только факультативно-анаэробными микроорганизмами, но и облигатными анаэробами. Но у новорожденных от матерей с ГСД статистически значимо реже встречаются Bacteroides spp. и Parabacteroides spp., чем в КГ (20 - 29,4%; 18 - 54,5%; p=0,01) и (14 - 20,6%; 15 - 45,5%; соответственно, p=0,01). В свою очередь только в группе ГСД были выделены Erysipelotrichaceae, которые отрицательно влияют на метаболизм липидов и вызывают ожирение [3], и Suterella wadsworthensis, обладающая провоспалительной способностью [4]. Таким образом, у новорожденных от матерей с ГСД нарушен баланс между бактериями, заселяющими кишечник в сторону преобладания микроорганизмов, способствующих формированию патологических процессов.

В связи с полученными данными, представляло интерес изучить детальное распределение типов бактерий у детей исследуемых групп в динамике до 3х лет (Рисунок 3).



3a 3b

Рисунок 3. Состояние микрофлоры кишечника методом секвенирования 16S рРНК у новорожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом (a), новорожденных КГ (b) в динамике исследования от 1 года до 3 лет

У детей 1-3 лет жизни Actinobacteria и Firmicutes являлись доминирующими типами бактерий, что закономерно для микробного сообщества в данном возрасте. Однако у детей от матерей с ГСД сохранялась тенденция к снижению относительной представленности Actinobacteria по отношению к Firmicutes и сопровождалась высокой степенью биоразнообразия МК за счет интенсивного роста условно-патогенных бактерий, по сравнению с таковой в КГ. Так, у детей от матерей с ГСД было выявлено 10, тогда как в КГ - только 3 преобладающих вида бактерий (Рисунок 3). При этом в группе ГСД статистически значимо чаще были выявлены Clostridium hiranonis, чем в КГ (5,12 Lg/КОЕ; 0,43 Lg/КОЕ; соответственно, p=0,01), которые являются маркером сахарного диабета. Такие закономерности становления микробиоценоза кишечника у детей от матерей с ГСД с одной стороны указывают на присутствующие компенсаторные механизмы, способствующие формированию микробиома у данной когорты детей, с другой – не вызывает сомнения прогрессирующее течение дисбиотических изменений, от периода новорожденности до 3 лет у детей, родившихся от матерей с ГСД, что может служить предикторами развития патологических процессов в организме ребенка в целом.

В связи с тем, что здоровье человека определяется не только количественным взаимоотношением микрофлоры, но в большей степени функциональной активностью микроорганизмов кишечника (ФАМК), способных вырабатывать летучие жирные кислоты участвующие во всех энергетических процессах макроорганизма, нами была проведена оценка функциональной активности МК у детей исследуемых групп (табл. 2).

Таблица 2. Активность микробиома кишечника у детей исследуемых групп (n= 206) по результатам биохимического исследования кала, n (%)

Показатель	ГСД		КГ	
	0-29 дней n=68	1– 3г. n=75	0-29 дней n=33	1– 3г. n=30
Суммарная концентрация КЦЖК	27 (39,7)	59 (78,7) *	14 (42,4)	18 (60,0)
Структурный индекс	24 (35,3) *	58 (77,3)	2(6,1)	18 (60,0)
Индекс изокислот	32 (47,1)	41 (54,7)	12 (36,4)	18 (60,0)
Концентрация масляной кислоты	24 (35,3) *	63 (84,0)	5 (15,2)	21 (70,0)
Соотношение уксусной: пропионовой: масляной кислот				
Уксусная кислота	21 (30,9) *	56 (74,7)	2 (6,1)	18 (60,0)
Пропионовая кислота	29 (42,6) *	64 (85,3)	5 (15,2)	21 (60,0)
Масляная кислота	20 (29,4)	48 (64,0)	7 (21,2)	16 (53,3)

Примечание: *- статистически значимое отличие при $p<0,05$ между группами ГСД и КГ

При изучении метаболического профиля МК выявлено, что у новорожденных от матерей с ГСД статистически значимо выше было среднее значение изокапроновой кислоты в кале, чем у новорожденных из КГ (0,11 ммоль/г; 0,04 ммоль/г; соответственно, $p<0,01$), что свидетельствует о неспособности МК детей от матерей с ГСД утилизировать тяжелые формы КЦЖК, накапливая их повреждающий эффект в периоде новорожденности. Показатели КЦЖК в возрасте 1-3 лет сохранили эту тенденцию.

Концентрация масляной (24 - 35,3%; 5 - 15,2%; соответственно, $p=0,028$), уксусной и пропионовой (29 - 42,6%; 5 - 15,2%; соответственно $p=0,005$) кислот и их соотношения (21 - 30,9%; 2 - 6,1%; соответственно, $p<0,01$) в пределах референсных значений статистически значимо чаще встречались у новорожденных от матерей с ГСД, в отличие от КГ, что также можно объяснить высокой активностью условно-патогенной флоры. Однако эти компенсаторные механизмы нельзя считать благоприятными, поскольку помимо положительных свойств пропионовой кислоты, она может способствовать избыточному накоплению воды в просвете кишечника и повышать проницаемость кишечной стенки для патогенов и токсических веществ [5]. В возрасте 1-3 лет суммарный уровень КЦЖК характерный для активно функционирующей микробиоты также встречается статистически значимо чаще у детей от матерей с ГСД, чем в КГ (59 - 78,7%;18 - 60,0%; соответственно, $p=0,04$). Что свидетельствует о сохранении высокой метаболической активности МК у детей от матерей с ГСД с рождения до 3 лет преимущественно за счет условно-патогенной и патогенной микрофлоры и подтверждает неблагоприятный прогноз повышения активности МК у детей от матерей с ГСД из-за декомпенсации механизмов регуляции состава микробиома. У детей от

матерей с ГСД была отмечена значимая прямая корреляция КЦЖК с Firmicutes и обратная с Bacteroidetes, Proteobacteria, учитывая дисбиоз данные связи могут свидетельствовать о вытеснении полезных бактерий условно патогенной и патогенной микрофлорой.

При сопоставлении полученных данных ФАМК с показателями углеводного обмена у новорожденных от матерей с ГСД была выявлена значимая прямая корреляционная связь с общим уровнем КЦЖК. Что может свидетельствовать об активном участии как индигенной, так и патогенной флоры в регуляции углеводного обмена у данной когорты детей, в отличие от детей КГ, где участвует только индигенная микробиота, обеспечивая полноценное поддержание баланса метаболизма углеводов. В возрасте от 1 года до 3 лет у детей от матерей с ГСД выражены связи КЦЖК, образующиеся в результате активности протеолитической микробиоты кишечника с глюкозой крови и фруктозамином, что демонстрирует менее надежную систему поддержания гомеостаза углеводного обмена при помощи МК у детей от матерей с ГСД, в отличие от КГ, где КЦЖК индигенной микробиоты коррелируют с глюкозой, гликированным гемоглобином и С-пептидом.

Корреляционный анализ ФАМК и показателей липидного обмена в периоде новорожденности у детей от матерей с ГСД связаны с повышением коэффициента атерогенности (КА) при усилении протеолитической активности МК, в отличие от новорожденных из КГ, у которых при активизации протеолитической микрофлоры в организме снижается уровень липидов, что может свидетельствовать о наличии защитных процессов регуляции макроорганизмом МК. Но в возрасте 1-3 лет выявлены альтернативные пути взаимосвязи МК и обменными процессами в виде снижения КА крови при повышении активности микробиома. Однако повышение общей активности дисбиотичного МК, в свою очередь, ведет к активизации протеолитической микробиоты и повышению КА, образуя замкнутый порочный круг.

Заключение

Состав МК у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД, достоверно отличается от МК у детей КГ и носит дизбиотический характер: представлен высоким разнообразием условно-патогенных и патогенных бактерий. ФАМК у данной когорты детей высокая, но достигается за счет активности условно-патогенной флоры, что в будущем может привести к срыву компенсаторных механизмов и запуску метаболических нарушений в организме ребенка. Следовательно, очень важно определять не только сочетание различных видов бактерий: условно-патогенных, патогенных и полезных, но и определять их функциональную (метаболическую) активность, т.к. каждый отдельный вид способен смещать внутрибактериальное равновесие в отрицательную или положительную стороны, оказывая соответствующее влияние на макроорганизм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brown J, de Vos WM, DiStefano PS, Dore J, Huttenhower C, Knight R, Lawley TD, Raes J & Turnbaugh P // Translating the human microbiome. Nat Biotechnol - 2013. – Vol 31. – P.304–308.
2. Sakanaka, M. Varied Pathways of Infant Gut-Associated Bifidobacterium to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with Bifidobacteria-Rich Microbiota Formation / M. Sakanaka, A. Gotoh, K. Yoshida [et al.] // Nutrients. – 2019. – Vol. 12, №1. – P. 71.
3. Zhao, L. A Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Lowers Weight by Modulating the Structure of Gut Microbiota / L. Zhao, Y. Chen, F. Xia [et al.] // Frontiersin Endocrinology. - 2018 - № 9. – P. 233.
4. Hiippala, K. Mucosal Prevalence and Interactions with the Epithelium Indicate Commensalism of Sutterella spp. / K. Hiippala, V. Kainulainen, M. Kalliomäki, P. Arkkila, R. Satokari // Front Microbiol. – 2016. – № 7. – P. 1706.
5. Vorobjeva, L.I. Propionic acid bacteria as probiotics / L.I. Vorobjeva, E.Y. Khodjaev, N.V. Vorobjeva // Microb. Ecol. Health Dis. – 2008. - № 20. – P. 109–112.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* КЛИНИЧЕСКОГО И ПИЩЕВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А.Д. Молчанов, А.А. Шеленков, Н.Г. Куликова, Ю.В. Михайлова

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, 111123 Россия

Обоснование: Заболевания пищевого происхождения, вызванные патогенами устойчивыми к противомикробным препаратам, являются основным фактором риска для здоровья населения. Причиной вспышек данных заболеваний является потребление зараженных бактериями пищевых продуктов. Наиболее восприимчивой группой, у которой заболевания пищевого происхождения могут привести к летальному исходу, являются: дети, пожилые люди и люди с ослабленным иммунитетом.

Цель исследования: Провести сравнительный анализ антибиотикорезистентных изолятов *Staphylococcus aureus*, определить различия детерминант устойчивости к антимикробным препаратам и генам вирулентности, а также последовательностей плазмидных репликонов у штаммов, полученных из продуктов питания и клинического материала.

Методы: Всего было исследовано 35 изолятов *Staphylococcus aureus*, которые были охарактеризованы с помощью анализа данных полногеномного секвенирования с точки зрения клональной структуры, наличия детерминант устойчивости и вирулентности, а также последовательностей плазмидных репликонов.

Результаты: Согласно MLST-типированию, исследуемые изоляты принадлежали к двум сиквенс типам ST22 и ST5. Двадцать два изолята относились к ST22, пятнадцать из которых получены из продуктов питания и семь из клинического материала. Группа ST5 изолятов включала тринадцать образцов, десять из них получены из продуктов питания, а три из клинического материала. По данным фенотипического анализа, тридцать три изолята *S. aureus* относились к MRSA. При этом только девять изолятов не обладали множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и относились к ST22. С помощью данных полногеномного анализа, *in silico* было установлено, что все изоляты из нашей коллекции обладали генами *blaZ* и *mecA*. Изоляты ST5 отличались наличием гена *erm(C)*, отвечающим за устойчивость к макролидам. По результатам филогенетического анализа два клинических изолята ST22 Crie-P-78 и Crie-P-65, относящиеся к одному штамму, находились в одном кластере с пищевыми изолятами. Также у всех исследуемых штаммов был выявлен широкий спектр генов вирулентности, общими для всех изолятов вне зависимости от их происхождения были гены *aur, hlgABC, sak* и *scn.*

***Заключение*:** Сравнительный анализ изолятов *S. aureus* клинического и пищевого происхождения, показал различия детерминант устойчивости к противомикробным препаратам, генов вирулентности и последовательностей плазмидных репликонов внутри одного ST, а также сходство некоторых пищевых и клинических изолятов, в виду небольшого количества отличающихся аллельных пар.

***Ключевые слова**:* множественная лекарственная устойчивость, детерминанты вирулентности, патогенный потенциал, геномная эпидемиология.

COMPARATIVE WHOLE-GENOME ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATES OF CLINICAL AND FOOD ORIGIN

A. D. Molchanov, A. A. Shelenkov, N. G. Kulikova, Yu. V. Mikhailova

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, 111123 Russia

Background: Foodborne illnesses caused by antimicrobial-resistant pathogens are one of the main risk factors for public health. Outbreaks of these diseases have been caused by the consumption of contaminated food products. The most vulnerable groups in which foodborne illnesses can be mortal are children, the elderly and people with weakened immune systems.

Aims: Comparative analysis of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* isolates, to determine differences of resistance and virulence determinants, as well as plasmid replicon sequences among strains collected from ready-to-eat food and clinical material.

Materials and methods: A total of 35 isolates of *Staphylococcus aureus* were studied and characterized using whole-genome sequencing analysis in terms of clonal structure, presence of resistance and virulence determinants, and plasmid replicon sequences.

Results: According to MLST, typing the isolates under investigation belonged to two sequence types ST22 and ST5. Twenty-two isolates were ST22, fifteen of them were collected from food products and seven were obtained from clinical material. ST5 group consisted of thirteen isolates; ten of them were obtained from food products and three from clinical material. According to phenotypic analysis, all *S. aureus* isolates studied were MRSA. Moreover, only nine isolates were not multidrug resistant (MDR) and belonged to ST22. Using genome-wide *in silico* analysis, it was found that all isolates from our collection possessed the *blaZ* and *mecA* genes. ST5 isolates were differentiated by the presence of the *erm(C)* gene, which is responsible for macrolide resistance. According to the results of phylogenetic analysis, two clinical ST22 isolates Crie-P-78 and Crie-P-65, belonging to the same strain, were located within the cluster of food isolates. Additionally, a wide spectrum of virulence determinants was shown in the sample set studied, such virulence genes as *aur, hlgABC, sak* and *scn* were revealed in all isolates in spite of their origin.

Conclusions: A comparative analysis of *S. aureus* isolates of ready-to-eat food and clinical origin showed differences in antimicrobial resistance determinants, virulence genes and plasmid replicon sequences within one ST, as well as similarities between some food and clinical isolates due to a small number of different allelic pairs.

Keywords: Multidrug resistance, virulence determinants, pathogenic potential, genomic epidemiology.

Введение

Тяжелые инфекции, вызванные устойчивыми к антибиотикам внутрибольничными бактериями, стали глобальной проблемой здравоохранения в 21 веке. В настоящее время устойчивость к противомикробным препаратам представляет собой сложную и многофакторную проблему, затрагивающую общество в целом. Современные тенденции устойчивости к противомикробным препаратам вызывают обеспокоенность и ведут к тому, что Всемирная организация здравоохранения называет «постантибиотической эрой», которая может наступить в ближайшем будущем [1].

Staphylococcus aureus считается постоянным представителем эндогенной микробиоты человека и связан с серьезными инфекционными заболеваниями, а также обладает способностью быстро развивать устойчивость к антибиотикам. Метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA) считается внутрибольничной инфекцией и связан с высокими показателями заболеваемости и смертности [2]. Инфекции, вызванные *S. aureus*, основаны на выработке поверхностных белков, которые инициируют прикрепление бактерий к тканям хозяина, секрецию внеклеточных токсинов и ферментов, разрушают клетки и ткани хозяина, инактивирует иммунную систему, а также влияют на рост и распространение бактерий в клетках и тканях хозяина [3]. В связи с чем, данный микроорганизм является одной из основных причин инфекционных заболеваний и представляет собой серьезную угрозу для здоровья человека во всем мире из-за многочисленных токсинов, которые он может выделять [4].

Госпитализации, связанные со стафилококковыми инфекциями, являются частыми, что увеличивает смертность и затраты на здравоохранение [5]. Более того, способность *S. aureus* вырабатывать ферменты, нейтрализующие антибиотики, усугубила проблемы, связанные с противомикробной терапией и привело к появлению многочисленных резистентных к антимикробным препаратам патогенов [5]. У *S. aureus* быстро развивается устойчивость к антибиотикам, и серьезной проблемой является рост форм с множественной лекарственной устойчивостью. Сообщается, что ежегодное число смертей от болезней, устойчивых к антибиотикам, превысило 10 миллионов и что к 2050 году оно превысит число смертей от рака [6].

На сегодняшний день в Российской Федерации (РФ) нет достаточного объема информации касательно сравнения полногеномных характеристик изолятов *S. aureus*, взятых из клинического материала из РФ и готовых к употреблению продуктов питания из стран ближнего зарубежья. В данном исследовании мы сравнили вариации в линиях, генах устойчивости к противомикробным препаратам (AMR), вирулентности и плазмидных последовательностях у изолятов *S. aureus* из клинического материала с территории РФ и пищевых продуктов из разных географических регионов с использованием полногеномного секвенирования (WGS). Главной целью исследования было получение и анализ эпидемиологически связанных данных, таких как типирование изолятов, а также выявление в геномах генов антибиотикорезистентности, факторов вирулентности и плазмид у изученных изолятов.

Методы

Материалом для исследования послужили двадцать пять изолятов, которые были получены из разных видов готовых к употреблению продуктов питания из разных географических регионов в период 2018–2022 гг. Десять изолятов были получены из клинического материала пациентов из разных городов Российской Федерации в период 2017-2018 гг. Основная часть образцов получена из мясных продуктов (12 изолятов), по четыре изолята собраны из салатов и сыров, а остальные пять образцов получены из гороховой каши, пирожков с капустой, мороженного, бисквита и йогурта. Все упомянутые выше изоляты были отобраны для WGS на основании их устойчивости к двум и более антимикробным соединениям из разных групп.

Фенотипический анализ на чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) осуществляли диско-диффузионным методом с использованием среды Мюллер-Хинтона (bioMerieux, Франция) и дисков с антибиотиками (BioRad, Франция). Для интерпретации полученных результатов применяли клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия-2015-02.Геномную ДНК выделяли с помощью набора «Рибо-преп» (Амплисенс, Москва, Россия) согласно протоколу производителя. Измерение концентрации полученных образцов ДНК проводили на приборе Qubit 2.0/4 с помощью Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США).

Пробоподготовку осуществляли по протоколу «Nextera Flex DNA» (Illumina, США). Индексированные полногеномные библиотеки объединялись в пулы в эквимолярном соотношении, пулы очищали и отбирали по длине с помощью «AMPure Magnetic beads» (Thermofisher Scientific). Качество пулов проверяли с помощью набора «High Sensitivity DNA Kit» (Agilent). Высокопроизводительное секвенирование проводили на приборе NextSeq 2000 (Illumina, США) с использованием набора реагентов NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (300 Cycles) v3 (Illumina, США).

Сборку геномов осуществляли с помощью программы SPAdes, версия 3.15.2 (https://cab.spbu.ru/software/spades/, [7]). Геномы были депонированы в базу данных Genbank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) под номером проекта PRJNA974000.

Выявление детерминант антибиотикорезистентности и генов вирулентности производили с использованием программы Resfinder ((https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/) и Virulence finder (https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/), соответственно, с параметрами по умолчанию. Мультилокусное типирование проводили с помощью базы данных BIGSdb (https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/).

Определение cgMLST профилей проводили с помощью программы MentaList версии 0.2.4 с параметрами по умолчанию [8]. Минимальное остовное дерево построено с помощью программы PHYLOViz online (http://online.phyloviz.net/index).

Результаты

Изоляты *Staphylococcus aureus* и их типирование

Всего было изучено 35 изолятов *S.aureus*, выделенных из готовых к употреблению продуктов питания из разных географических регионов и клинического материала с территории Российской Федерации. Изоляты принадлежали к двум сиквенс типам (ST) ST22 и ST5. Двадцать два изолята относились к ST22, среди которых пятнадцать получены из продуктов питания (n=15/22; 68,2%) и семь из клинического материала (n=7/22; 31,8%). Группа ST5 включала тринадцать изолятов, десять из которых получены из продуктов питания (n=10/13; 76,9%), а три из клинического материала (n=3/13; 23,1%) (Табл. 1).

Фенотипический анализ и детерминанты антибиотикорезистентности

Результаты тестирования на чувствительность к АМП, а также выявленные детерминанты антибиотикорезистентности изученных изолятов *S. aureus* представлены в таблице 1. Все изоляты, кроме Crie-F57, полученные из региона Средняя Азия 1, были чувствительны к линезолиду. Все исследуемые образцы имели чувствительность к нитрофурантоину и тигециклину. ST5-штаммы дополнительно обладали чувствительностью к линезолиду, а также к гентамицину, ванкомицину и хинупристину/дальфопристину, кроме изолята Crie-F1301, который проявлял наименьшую чувствительность к антибиотикам. Только Crie-F863 обладал чувствительностью к ампицилину и вместе с изолятом Crie-P91 характеризовался чувствительностью к оксацилину в отличие от остальных исследуемых изолятов. ST5-штаммы

имели резистентность к наибольшему количеству АМП, так, все они были резистентны к оксациллину, ампициллину, цефокситину, хлорамфениколу, эритромицину и клиндамицину, кроме Crie-F1301. По данным фенотипического анализа, все изоляты *S. aureus,* за исключением двух вышеупомянутых Crie-F863 и Crie-P91, относились к MRSA. При этом только девять изолятов не обладали множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и принадлежали к ST22. Среди них пять изолятов получены из продуктов питания (Crie-F54, Crie-F313, Crie-F317, Crie-F322, Crie-F863) и четыре - из клинического материала (Crie-P65, Crie-P78, Crie-P91, Crie-P184). Все ST5 изоляты, вне зависимости от происхождения (клинические или из продуктов питания), обладали МЛУ.

С помощью поиска генетических детерминант антибиотикорезистентности *in silico* было установлено, что все изоляты из нашей коллекции обладали генами *blaZ* и *mecA*, отвечающие за устойчивость к β-лактамным антибиотикам и метициллину. Следует отметить, что ST22 штаммы из региона Средней Азии 1, за исключением изолятов Crie-F313 и Crie-F317, обладали геном *lnu(A)*, обеспечивающим устойчивость к линкозамидам. В свою очередь изоляты Crie-F847 и Crie-F863 ST22 из региона Средней Азии 2, имели ген *tet(K)*, отвечающий за устойчивость к тетрациклинам. Среди клинических образцов ST22, выделялись Crie-P65 и Crie-P78, содержащие ген *lnu(A),* и Crie-P202, содержащий гены *aac(6')-aph(2'')* и *aadD,* обеспечивающие устойчивость к аминогликазидам. ST5-изоляты отличались наличием гена *erm(C)*, отвечающим за устойчивость к макролидам. Больший интерес представляют клинические изоляты ST5, а именно Crie-Sa42 и Crie-Sa43, имеющие следующие детерминанты антибиотикорезистентности: *ant(9)-Ia* и *aadD* (обеспечивающие устойчивость к аминогликазидам), *bleO* (обеспечивающий устойчивость к блеомицину), *erm(A)* (отвечающим за устойчивость к макролидам) и *fusB* (обеспечивающие устойчивость к фузидовой кислоте).

Таблица 1. Фенотипические и геномные профили антимикробной резистентности изолятов *S. aureus* из готовых к употреблению пищевых продуктов и клинического материала

Оксациллин (OXA)	Ампициллин (AMP)	Цефокситин (FOX)	Ципрофлоксацин (CIP)	Левофлоксацин (LVX)	Моксифлоксацин (MXF)	Гентамицин (GMN/GEN)	Ванкомицин (VAN)	Хлорамфеникол (CHL)	Нитрофурантоин (NIT)	Рифампицин (RIF)	Тиметоприм-сульфаметоксазол (SXT)	Доптомицин (DAP)	Эритромицин (ERY)	Клиндамицин (CMN)	Хинупристин/дальфопристин (Q-D)	Тетрациклин (TET)	Тайгециклин (TGC)	Линезолид (LIN/LZD)	№ образца	Вид продукции	Доп. Обозначения	MLST	aac(6')-aph(2'')	ant(9)-1a	aadD	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
-	-	R	S	S	-	S	-	S	-	S	R	-	S	S	-	S	-	S	Crie-F54	гороховая каша	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
-	-	R	S	S	-	S	-	S	-	S	R	-	S	I	-	R	-	S	Crie-F55	пирожки с капустой	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
-	-	R	R	S	-	S	-	S	-	S	R	-	S	S	-	S	-	R	Crie-F57	мороженное	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
-	-	R	S	S	-	S	-	S	-	S	S	-	S	S	-	S	-	S	Crie-F313	Бисквит	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
-	-	R	S	S	-	S	-	S	-	S	S	-	S	S	-	S	-	S	Crie-F317	Салат оливье	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
-	-	R	S	S	-	S	-	S	-	S	S	-	S	S	-	S	-	S	Crie-F322	макороны сфаршом	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
-	R	-	R	R	-	R	-	-	S	-	R	-	-	-	-	R	-	-	Crie-F1551	колбаса вареная	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	Crie-F318	салат	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	Crie-F56	салат	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	R	S	S	S	I	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	Crie-F315	котлета с макаронами	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	+	-
R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1162	салат	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	R	I	I	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	Crie-F1536	блинчики с мясом	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Crie-F1600	макароны с мясным подливом	Средняя Азия 1	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	R	R	S	R	S	S	S	S	-	S	S	S	R	R	S	R	S	S	Crie-F847	Сосиски	Средняя Азия 2	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	+
S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F863	Колбаса	Средняя Азия 2	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	+
R	-	-	S	S	-	S	S	R	-	R	R	-	S	S	-	S	S	S	Crie-Sa39	Эндотрахеальный аспират	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
R	-	-	-	S	-	S	S	-	-	-	-	-	S	S	-	S	-	S	Crie-P65	Клинический материал	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
R	-	-	-	S	-	S	S	-	-	-	-	-	S	S	-	S	-	S	Crie-P78	Клинический материал	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	+	-
S	-	-	-	S	-	S	S	-	-	-	-	-	S	S	-	R	-	S	Crie-P91	Клинический материал	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	-	S	-	S	-	S	S	-	S	S	S	Crie-P104	Мазок из зева	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
R	-	-	-	S	-	S	S	-	-	-	-	-	S	S	-	S	-	S	Crie-P184	Клинический материал	Клиника	ST22	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
R	-	-	-	R	-	R	S	-	-	-	-	-	-	S	-	S	-	S	Crie-P202	Клинический материал	Клиника	ST22	+	-	+	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-
R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Crie-F1301	Фарш Говяжий	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1303	Сыр Худжандский	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1304	Колбаса Сальями	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	Crie-F1307	Актимель Йогурт	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1312	Сыр Худжандский	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1314	Сыр Голандский	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1315	Колбаса копчённая	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1316	Сыр колбасный	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	Crie-F1318	Фарш говяжий	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	Crie-F1319	Сосиски	Средняя Азия 2	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	+	-	-	-
R	-	-	R	R	-	S	S	R	-	S	S	-	R	R	-	S	S	S	Crie-Sa42	Раневое отделяемое	Клиника	ST5	-	+	+	[illegible]	[illegible]	+	+	-	+	-	-
R	-	-	R	R	-	S	S	R	-	S	S	-	R	R	-	S	S	S	Crie-Sa43	Раневое отделяемое	Клиника	ST5	-	+	+	[illegible]	[illegible]	+	+	-	-	-	-
R	R	R	I	I	S	S	S	-	-	-	S	S	S	S	-	S	-	S	Crie-P573	Содержимое абсцесса	Клиника	ST5	-	-	-	[illegible]	[illegible]	-	-	-	-	-	-

Филогенетический анализ изученных изолятов *Staphylococcus aureus*

Для получения дополнительной информации о гетерогенности изучаемой популяции *Staphylococcus aureus* было проведено сравнение их полных геномов по установленным профилям cgMLST. Для этого было построено минимальное остовное дерево (Рисунок 1), которое обладает высокой дискриминирующей способностью и четко демонстрирует генетическое разнообразие и родство исследуемых изолятов. На остовном дереве представлены изоляты, разделённые по двум сиквенс типам: ST22 и ST5. Количество различных аллелей между парами соответствующих изолятов внутри одного клонального комплекса составляло от 1 до 54, в то время как между изолятами разных комплексов достигало 1675 аллелей. Однако, количество аллелей между сравниваемыми парами внутри одного кластера изолятов пищевого и клинического происхождения составляло от 41 до 288. В соответствии с одним из предложенных пороговых значений, изоляты *S. aureus*, отличающиеся друг от друга менее чем на 15 аллелей, относятся к одному штамму [9].

Изоляты, находящиеся внутри круга, обозначенного на дереве, относятся к ST22, и были собраны в регионе Средней Азии 1, количество различных аллельных пар между изолятами составило лишь 54. Стоит отметить два клинических изолята этого же сиквенс типа Crie-P-78 и Crie-P-65, относящиеся к одному штамму, также находились внутри данного кластера, отличаясь от пищевых изолятов на сорок одну аллельную пару. Все остальные клинические изоляты отличались от пищевых более чем на 105 аллельных пар.

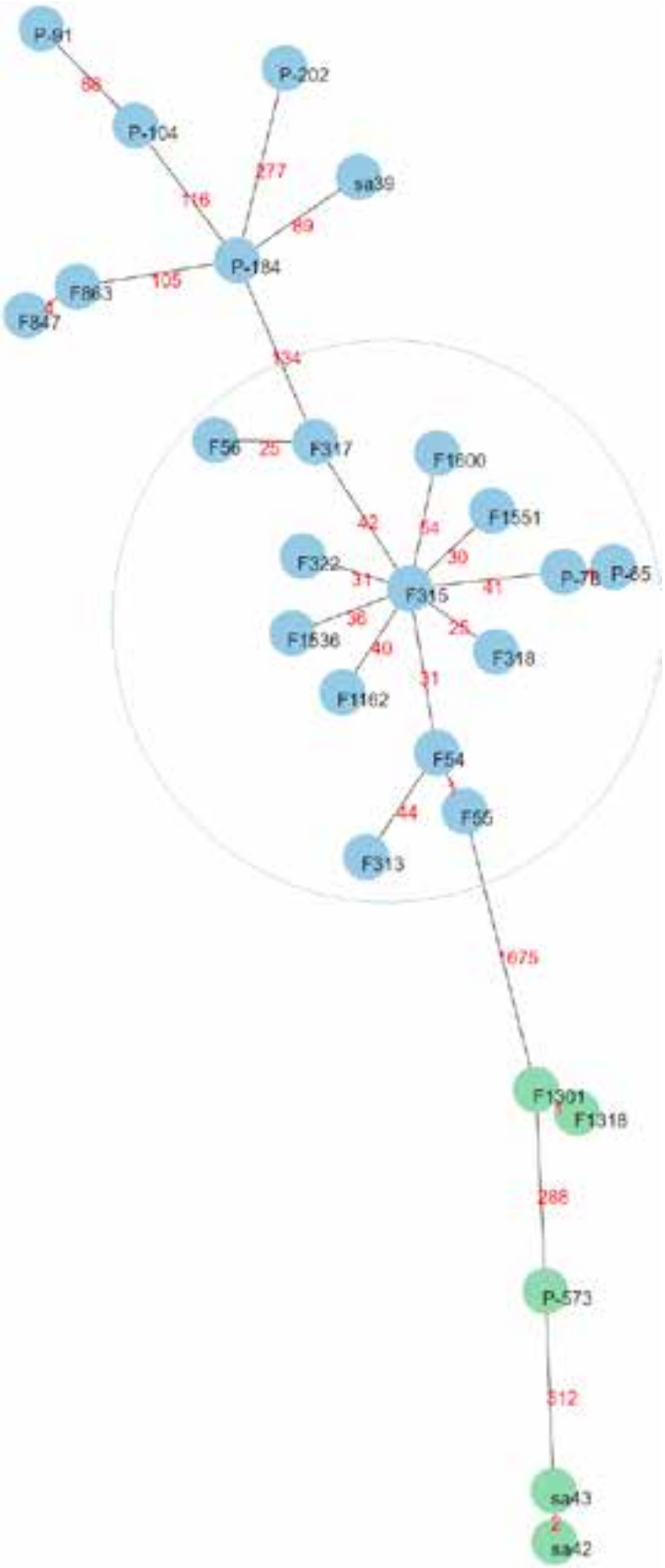


Рисунок 1. Минимальное остовное дерево, построенное на основе профилей cgMLST изолятов *Staphylococcus aureus*

Цифры указывают количество различных аллелей между парами соответствующих изолятов. Номера изолятов изменены с Crie-F на F для лучшей визуализации. Образцы, имеющие идентичные профили, объединены в один узел и не указаны на дереве (F1303, F1304, F1307,

F1312, F1314, F1315, F1316, F1319 и F1301; F57 и F54). Изоляты, состоящие в одном клональном комплексе, обозначены одним цветом и расположены рядом.

Профили генов вирулентности и плазмидные последовательности

Спектр генов вирулентности изученных изолятов был достаточно обширен. Особенность *Staphylococcus aureus* заключается в том, что один фактор вирулентности может выполнять в патогенезе несколько функций, а также одну и ту же функцию могут выполнять несколько факторов вирулентности [10].

В нашем исследовании были идентифицированы факторы вирулентности в пищевых и клинических изолятах *S. aureus*, исследованных с помощью биоинформатического анализа данных WGS. Весь список из шестидесяти двух выявленных генов вирулентности представлен в дополнительном материале.

У всех изолятов были обнаружены гены вирулентности *aur* и *hlgABC* (гены токсина, усиливающие вирулентность) [11]*, sak* и *scn,* отвечающих за уклонение от иммунного ответа [12]. Клинические ST22 изоляты, за исключением Crie-Sa39, отличались от пищевых меньшим набором генов вирулентности. В тоже время у данных изолятов наблюдались не типичные гены *seg, sei, sem, sen, seo, seu,* также у изолятов Crie-P91 и Crie-P104 был обнаружен ген *sea,* который связан с тяжестью инфекций (сепсис и шок) [13]*,* характерные для ST5 и гены *splA,B,E,* вирулентная роль которых до конца не изучена [14]. Ген *tsst-1*, кодирующий токсин синдрома токсического шока [15], обнаружен у всех изолятов полученных из продуктов питания и клинического изолята Crie-Sa39. Стоит отметить, что ген, который связывают с рецидивирующими инфекциями кожи и мягких тканей [16], *lukS –PV,* был обнаружен только у двух клинических изолятов Crie-P202 ST22 и Crie-P573 ST5.

Геном *S. aureus* содержит мобильные генетические элементы, на которых расположены гены, обеспечивающие устойчивость к антибиотикам. Одним из мобильных генетических элементов являются плазмиды, отвечающие за распространение детерминант резистентности и факторов вирулентности. Классификация плазмид была определена по группам несовместимости на основе того факта, что две плазмиды с одинаковыми белками репликации (*Rep*) не могут стабильно поддерживаться в одной и той же клетке [17]. В 35 образцах, проанализированных в настоящем исследовании при помощи PlasmidFinder, было выявлено 13 различных последовательностей плазмидных репликонов.

Четыре клинических изолята Crie-Sa39, Crie-P65, P78 и Crie-P104 не имели *Rep*-последовательностей. Изолят Crie-F315 характеризовался максимальным количеством *Rep*-последовательностей, включающих 4 из 13 наблюдаемых типов. Преобладающими обнаруженными последовательностями плазмидных репликонов среди изолятов ST5 являлись *Rep20* и *Rep10*, обнаруженные у 11 из 13 исследованных изолятов. Исключения составили два клинических изолята Crie-Sa42 и Crie-Sa43, принадлежащие одному штамму. Для изолятов ST22, полученных из региона Средней Азии 1 из продуктов питания, были характерны *Rep16* и *RepUS5*, за исключением изолятов Crie-F56, Crie-F313 и Crie-F317. Важно отметить, что Crie-F56 и Crie-F313 вместо характерных для ST22 последовательностей репликона, содержали *Rep5a* и *Rep20*, а Crie-F313 содержал все *Rep* свойственные для ST5. Изоляты ST22, полученные из продуктов питания региона Средней Азии 2, отличались и содержали *Rep7a*. Клинические же изоляты ST22 Crie-P104 и Crie-P184 содержали такие последовательности репликона, как: *pSas, SAP105B* и *pAMalpha1*.

Выводы

В нашем исследовании представлен полногеномный анализ 25 изолятов *S. aureus,* полученных из готовых к употреблению продуктов питания в различных географических регионах и 10 изолятов *S. aureus* клинического происхождения из Российской Федерации.

Сравнительный анализ изолятов *Staphylococcus aureus* клинического и пищевого происхождения, показал различия детерминант устойчивости к противомикробным препаратам, генов вирулентности и последовательностей плазмидных репликонов внутри одного ST, а также сходство антибиотикорезистентных ST22 пищевых и клинических изолятов, в виду небольшого (от 25 до 56) количества отличающихся аллельных пар, учитывая достаточно стабильный геном данного вида патогена.

Мы полагаем, данные проведенного нами сравнительного полногеномного анализа изолятов *S. aureus* клинического и пищевого происхождения очень важны, поскольку дают четкую оценку патогенного потенциала образцов, полученных из готовой продукции, которая представляет собой важный путь передачи и распространения множества патогенных детерминант. Полученные результаты будут способствовать улучшению эпидемиологического надзора и разработке мер защиты от этого важного патогена не только в клинике, но и в условиях пищевых производств и других организаций пищевого профиля, в особенности общественного питания.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора, Рег. № НИОКТР АААА-А21-121011990061-3

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Romero L.C., de Souza da Cunha M. de L.R. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in special populations and at the community-healthcare interface // Brazilian J Infect Dis. Elsevier, 2021. Vol. 25, № 6.
2. de Oliveira E.M.N. et al. Colonization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among healthcare students: an integrative review // São Paulo Med J. Associação Paulista de Medicina, 2021. Vol. 139, № 6. P. 607.
3. Ahmad-Mansour N. et al. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments // Toxins (Basel). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2021. Vol. 13, № 10.
4. da Silva A.C., Rodrigues M.X., Silva N.C.C. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in food and the prevalence in Brazil: a review // Brazilian J Microbiol. Brazilian Society of Microbiology, 2020. Vol. 51, № 1. P. 347.
5. Zhen X. et al. Clinical and economic impact of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a multicentre study in China // Sci Rep. Sci Rep, 2020. Vol. 10, № 1.
6. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016.
7. Bankevich A. et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing // J Comput Biol. J Comput Biol, 2012. Vol. 19, № 5. P. 455–477.
8. Feijao P. et al. MentaLiST - A fast MLST caller for large MLST schemes // Microb genomics. Microb Genom, 2018. Vol. 4, № 2.
9. Schürch A.C. et al. Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene–based approaches // Clin Microbiol Infect. Elsevier Ltd, 2018. Vol. 24, № 4. P. 350–354.
10. Harper L. et al. Staphylococcus aureus Responds to the Central Metabolite Pyruvate To Regulate Virulence // MBio. mBio, 2018. Vol. 9, № 1.

11. Rodrigues R.A. et al. Comparative genomics study of Staphylococcus aureus isolated from cattle and humans reveals virulence patterns exclusively associated with bovine clinical mastitis strains // Front Microbiol. Frontiers Media S.A., 2022. Vol. 13.
12. Cuny C. et al. Prevalence of the immune evasion gene cluster in Staphylococcus aureus CC398 // Vet Microbiol. Elsevier, 2015. Vol. 177, № 1–2. P. 219–223.
13. Ferry T. et al. Comparative prevalence of superantigen genes in Staphylococcus aureus isolates causing sepsis with and without septic shock // Clin Infect Dis. Clin Infect Dis, 2005. Vol. 41, № 6. P. 771–777.
14. Paharik A.E. et al. The Spl Serine Proteases Modulate Staphylococcus aureus Protein Production and Virulence in a Rabbit Model of Pneumonia // mSphere. American Society for Microbiology (ASM), 2016. Vol. 1, № 5.
15. Mikhaylova Y. et al. Whole-Genome Analysis of Staphylococcus aureus Isolates from Ready-to-Eat Food in Russia // Foods. MDPI, 2022. Vol. 11, № 17.
16. Chamon R.C. et al. Panton-Valentine leukocidin (PVL) isoforms among Staphylococcus aureus lineages isolated from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil // Brazilian J Microbiol. Brazilian Society of Microbiology, 2020. Vol. 51, № 4. P. 1509.
17. Jensen L.B. et al. A classification system for plasmids from enterococci and other Gram-positive bacteria // J Microbiol Methods. J Microbiol Methods, 2010. Vol. 80, № 1. P. 25–43.

Информация об авторах

Молчанов Артем Дмитриевич [**Molchanov Artem Dmitrievich**]; адресс: 111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А [address: 111123, Russia, Moscow, st. Novogireevskaya, building 3A]; телефон: 8(977)927-66-17; **ORCID**: 0000-0001-5229-2285; **e-mail**: Molchanov@cmd.su

Шеленков Андрей Александрович кандидат физико-математических наук [**Shelenkov Andrej Aleksandrovich, PhD**]; адресс: 111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А [address: 111123, Russia, Moscow, st. Novogireevskaya, building 3A]; **ORCID:** 0000-0002-7409-077X; **eLibrary SPIN**: 6710-7264; **e-mail**: shelenkov@cmd.su

Куликова Нина Георгиевна кандидат биологических наук [**Kulikova Nina Georgievna, PhD**]; адресс: 111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А [address: 111123, Russia, Moscow, st. Novogireevskaya, building 3A]; **ORCID:** 0000-0002-1716-6969; **eLibrary SPIN**: 8876-0698; **e-mail**: kulikova@cmd.su

Михайлова Юлия Владимировна кандидат биологических наук [**Mihajlova Julija Vladimirovna, PhD**]; адресс: 111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А [address: 111123, Russia, Moscow, st. Novogireevskaya, building 3A]; **ORCID:** 0000-0002-5646-538X; **eLibrary SPIN**: 9563-7123; **e-mail**: mihailova@cmd.su

РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРНОЙ ПАНЕЛИ В ФОРМАТЕ «МУЛЬТИПЛЕКС» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШИРОКОГО СПЕКТРА ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ NGS

М.И. Надтока, А.В. Пересадина, К.Ф. Хафизов, В.Г. Акимкин

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Вирусы являются, пожалуй, самыми распространенными биологическими объектами на нашей планете, чье разнообразие поистине велико [1]. Исследования предполагают, что только в океанах в любой момент времени находится около 10^{-31} отдельных вирусных частиц, а количество существующих видов вирусов пока не установлено. На сегодняшний день, по данным международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), нам известно о более чем 11 000 названных видов вирусов, что по предположениям является малой долей от общего числа [2, 3]. Разумеется, не все известные виды способны инфицировать человека, а лишь небольшая их часть, насчитывающая чуть более 200 видов, однако, число таких вирусов неуклонно растет [4].

Всего за последнее и нынешнее столетия человечество столкнулось с возросшей частотой вспышек смертоносных вирусных заболеваний, последствия которых зачастую оказываются катастрофическими. Даже если рассматривать только респираторные инфекции, вызванные вирусными патогенами, то в первую очередь стоит вспомнить пандемию гриппа “А” (H1N1), прозванного “испанка”, являющуюся одной из самых масштабных в новейшей истории. Пандемия, бушевавшая с 1918 по 1919 год привела к катастрофическим глобальным потерям, а количество погибших, по относительно недавней оценке, составило 40 000 000 - 50 000 000 человек по всему миру. Несмотря на скудные или отсутствующие данные по многим странам, считается, что на тот момент вирус поразил более половины населения Земли. Новый штамм гриппа отличался от тех, что вызывали сезонные эпидемии и пандемии до этого, непропорционально высоким уровнем заболеваемости среди молодых людей, особенно ранее здоровых лиц в возрасте от 18 до 40 лет [5, 6]. По прошествии практически 40 лет, в течение которых H1N1 оставался единственным циркулирующим штаммом гриппа, в 1957 году в Китае появился новый штамм гриппа H2N2. Этот штамм стал известен как “азиатский грипп” и привел к пандемии сравнительно меньших масштабов, число летальных случаев при которой составило порядка 1 000 000 - 2 000 000 человек [5, 6, 7]. Следующая пандемия

пришлась на 1968 год и была вызвана вирусом гриппа “А” (H3N2). Количество смертей в ходе данной пандемии насчитывает 1 млн человек во всем мире, при этом наибольшее число смертей приходилось на возрастную группу людей старше 65 лет [5, 6]. Последняя на сегодняшний день пандемия вирусов гриппа пришлась на 2009 год и была вызвана новым штаммом вируса гриппа “А” H1N1, который более известен как “свиной грипп”. Впервые вспышки заболеваемости были зафиксированы в Мексике и США, а уже через несколько месяцев об инфекции сообщалось в 122 странах. Распространившийся вирус инфицировал порядка 250 000 человек, при этом отмечался сдвиг смертности в сторону более молодых групп населения, в первую очередь детей, подростков и беременных женщин, также пандемия характеризовалась довольно большой долей летальных случаев [5, 8, 9, 10, 11].

Наравне с вирусами гриппа, одними из наиболее показательных и актуальных вирусных патогенов, обладающих пандемическим потенциалом, являются коронавирусы. Первая вспышка заболеваемости коронавирусами произошла в 2002 году и была вызвана вирусом SARS-CoV, распространение которого привело к развитию тяжелого острого респираторного синдрома (SARS - Severe Acute Respiratory Syndrome) у более чем 8000 человек, при этом в 9% случаев заболевание оказалось летальным [12]. Позднее, в 2012 году в Саудовской Аравии был обнаружен коронавирус MERS-CoV, являвшийся причиной вспышки заболеваемости Ближневосточным респираторным синдромом (MERS - Middle East Respiratory Syndrome). При этом заболевание, вызванное MERS-CoV характеризовалось высокими показателями летальности, при смертности в период вспышки равной 36% [13]. Наконец, одна из наиболее известных и недавних пандемий произошла в 2019 - 2022 годах и была вызвана распространением вируса, получившего название SARS-CoV-2. Данный возбудитель вызывает так называемую «новую» коронавирусную инфекцию (COVID-19) — болезнь, характер распространения которой с марта 2020 года классифицировался Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как пандемия [14]. Данная пандемия имела поистине ужасающие масштабы и за период с 2019 по 2023 год включительно вирус инфицировал более чем 770 000 000 человек по всему миру, при этом в более 7 000 000 случаев болезнь оказалась летальной [15].

Безусловно, выше перечислены лишь вспышки инфекционных заболеваний, вызванные вирусными агентами, оставившие наиболее заметный след в новейшей истории, но даже они показывают, насколько важно вовремя выявлять возбудителя заболевания. Вдобавок, даже без учета крупных вспышек заболеваний, таких как

COVID-19, острые респираторные инфекции занимают четвертое место среди причин смертности населения, ежегодно приводя к более чем 4,25 миллионам смертей, при этом приблизительно в 80% случаев заболевание вызвано вирусным возбудителем [16, 17].

В связи с этим исключительно важно разрабатывать и внедрять в систему эпидемиологического мониторинга эффективные и быстрые методы диагностики вирусных патогенов.

Сегодня особое место в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями занимают молекулярно-генетические методы, так как они отличаются преимущественно высокой специфичностью, чувствительностью и быстротой. Методы диагностики респираторных вирусных инфекций, используемые в клинических лабораториях, включают тесты на основе методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), прямой иммунофлуоресцентный анализ (пИФА) и экспресс-тесты на обнаружение антигенов (RADT) [18, 19]. Среди данных лабораторных методов МАНК считаются эталонным диагностическим стандартом из-за своей высокой чувствительности и специфичности, а также возможности получения результата тестирования в короткие сроки [20]. Однако, несмотря на описанные преимущества, представленные методы разделяют один общий недостаток, который заключается в предоставлении крайне ограниченной информации о детектируемом вирусном агенте в образце. По сути, данные способы лишь позволяют сделать заключение о содержании в клиническом образце ДНК или РНК того или иного вируса и определить примерную концентрацию нуклеиновых кислот. Вдобавок, данные подходы имеют ограничение по количеству вирусов-мишеней, а для выявления возбудителей с их помощью требуется предварительная гипотеза о предполагаемом вирусном агенте, содержащимся в образце.

Поэтому на их фоне более выигрышным решением смотрится использование технологий высокопроизводительного секвенирования (NGS - Next-generation sequencing) в качестве инструмента идентификации и изучения вирусных патогенов. К тому же, в течение последних 10 – 15 лет стоимость экспериментов с использованием NGS снизилась, что сделало данные технологии доступными практически каждому [21]. Огромным преимуществом NGS является генерация большого объема геномных данных возбудителя заболевания, вследствие чего исследователь получает более полную информацию о патогене.

Существуют два основных подхода к секвенированию патогенов, каждый из которых имеет свои сильные стороны и применяется в зависимости от поставленных задач. Данные подходы, основанные на технологиях NGS, включают *метагеномное*

секвенирование и *секвенирование ампликонов*. При метагеномном секвенировании исследуются тотальные РНК или ДНК, содержащиеся в образце, что хорошо, к примеру, при поиске нового (неизвестного) возбудителя заболевания. Однако, такой подход сопряжен и с некоторыми трудностями, которые заключаются в необходимости в тщательной биоинформатической обработке данных NGS, что выливается в большие временные затраты. Секвенирование ампликонов подразумевает предварительную ПЦР-амплификацию участков генома патогена, тем самым этот метод позволяет генерировать множество копий интересующих нас областей генома вируса [22]. По сравнению с метагеномным подходом, секвенирование ампликонов позволяет получать огромное количество специфичных прочтений, что вместе с тем минимизирует «фоновые» прочтения (к примеру фрагменты генома человека).

Кроме того, ампликонное секвенирование дает возможность использовать так называемые “мультиплексные” праймерные панели. Формат “мультиплекс” означает, что множество пар праймеров, предназначенных для амплификации разнообразных мишеней, могут быть объединены в одной или нескольких пробирках [23, 24]. Такой подход позволяет провести одновременную амплификацию фрагментов геномов различных патогенов из большого числа образцов. Таким образом, “мультиплексные” праймерные панели в сочетании с технологиями NGS позволяют провести обширное изучение вирусных агентов в клинических образцах и повышают эффективность анализа [25].

Нами разработана панель праймеров в формате “мультиплекс” для амплификации и секвенирования коротких консервативных участков геномов 28 вирусных патогенов, вызывающих респираторные заболевания, а именно: вирусы гриппа “A”/”B” (подтипы H1N1, H3N2 – грипп “A”; B/Victoria – грипп “B”), коронавирусы NL63, HKU1, OC43, 229E, SARS-CoV-2, аденовирусы HAdV-B/C/E, вирусы парагриппа 1, 2, 3, 4 , респираторно-синцитиальный вирус “A” и “B” (RSV), вирус ветряной оспы (VZV), парэховирусы, метапневмовирусы клады 1 и 2, бокавирусы подтипов 1,2,3, цитомегаловирус и вирус Эпштейна-Барр. Все 28 пар праймеров разбиты на две смеси (“пулы”) для того, чтобы минимизировать риск возникновения димеров праймеров в процессе ПЦР. Праймеры в составе панели имеют на 5’-конце модификацию в виде адаптера Nextera, что позволяет избежать необходимости фрагментировать ДНК в процессе подготовки библиотек для секвенирования, а также способствует существенному сокращению финансовых и временных затрат при пробоподготовке.

Работоспособность созданной “мультиплексной” панели была проверена на клинических образцах, содержащих различные вирусные патогены, ответственные за развитие респираторных заболеваний. Геномные фрагментные последовательности, полученные при помощи нашей панели, были успешно секвенированы. Полученные таким образом фрагменты полностью соответствовали участкам референсных геномов вирусов, что подтверждает надежность идентификации вирусных патогенов посредством разработанной “мультиплексной” панели (рисунок 1).

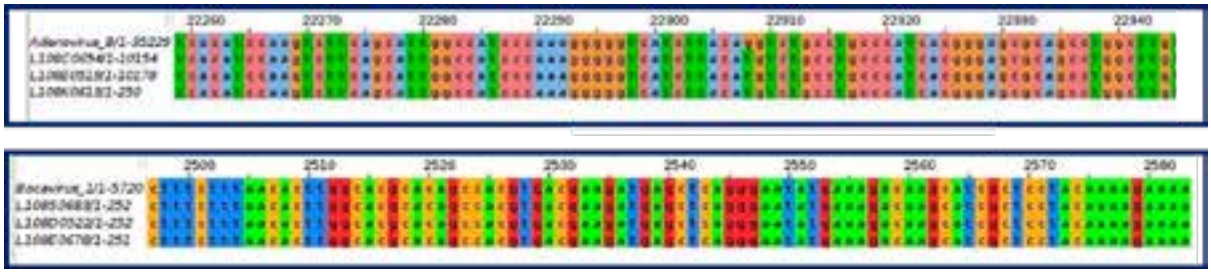


Рисунок 1. Консенсусные последовательности целевых участков геномов аденовирусов генотипа “B” и бокавируса подтипа 1, полученных с использованием созданной “мультиплексной” праймерной панели

В ближайшем будущем планируется осуществлять постоянное секвенирование фрагментов вирусных геномов из клинических образцов при помощи созданной панели для выявления патогенов, вызывающих респираторные заболевания у населения страны. В частности, на данном этапе нами проводится диагностика большого количества клинических образцов (n = 500) от пациентов, проходивших тестирование на инфекцию SARS-CoV-2, у которых, однако, существующие тест-системы не выявили наличие РНК вируса в образце, и таким образом диагноз не был поставлен.

Разработанная “мультиплексная” праймерная панель в перспективе может оказаться крайне полезным инструментом эпидемиологического надзора, так как для ее использования не требуется наличие предварительной гипотезы о вирусном агенте, содержащемся в образце. К тому же, с ее помощью возможно расследовать случаи коинфекции сразу несколькими вирусными патогенами. Более того, геномные данные, получаемые за счет комплексного подхода, основанного на использовании “мультиплексной” панели вкупе с технологиями NGS, могут стать надежным подспорьем для усовершенствования существующих тест-систем и/или разработке новых. В будущем, при наличии таковой потребности, и с учетом постоянного удешевления процесса секвенирования, данная панель может быть модифицирована не только для задач идентификации более широкого спектра патогенов, чем позволяют

существующие ПЦР-тесты, но и для их генотипирования за счет прочтения “значимых” фрагментов генома вируса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Suttle C. A. Marine viruses—major players in the global ecosystem //Nature reviews microbiology. – 2007. – Т. 5. – №. 10. – С. 801-812.
2. Dance A. The incredible diversity of viruses //Nature. – 2021. – Т. 595. – С. 22-25.
3. https://ictv.global/taxonomy
4. Woolhouse M. et al. Human viruses: discovery and emergence //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2012. – Т. 367. – №. 1604. – С. 2864-2871.
5. Saunders-Hastings P. R., Krewski D. Reviewing the history of pandemic influenza: understanding patterns of emergence and transmission //Pathogens. – 2016. – Т. 5. – №. 4. – С. 66.
6. Bloom D. E., Cadarette D. Infectious disease threats in the twenty-first century: strengthening the global response //Frontiers in immunology. – 2019. – Т. 10. – С. 549.
7. Nabel G. J., Wei C. J., Ledgerwood J. E. Vaccinate for the next H2N2 pandemic now //Nature. – 2011. – Т. 471. – №. 7337. – С. 157-158.
8. Roychoudhury S. et al. Viral pandemics of the last four decades: pathophysiology, health impacts and perspectives //International journal of environmental research and public health. – 2020. – Т. 17. – №. 24. – С. 9411.
9. Bhadoria P., Gupta G., Agarwal A. Viral pandemics in the past two decades: An overview //Journal of family medicine and primary care. – 2021. – Т. 10. – №. 8. – С. 2745.
10. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans //New England journal of medicine. – 2009. – Т. 360. – №. 25. – С. 2605-2615.
11. Smith G. J. D. et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic //Nature. – 2009. – Т. 459. – №. 7250. – С. 1122-1125.
12. Cherry J. D., Krogstad P. SARS: the first pandemic of the 21st century //Pediatric research. – 2004. – Т. 56. – №. 1. – С. 1-5.
13. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)

14. https://www.who.int/ru/news-room/detail/29-06-2020-covidtimeline
15. https://covid19.who.int/
16. Mayor S. Acute respiratory infections are world's third leading cause of death. – 2010.
17. Mahony J. B. Detection of respiratory viruses by molecular methods //Clinical microbiology reviews. – 2008. – T. 21. – №. 4. – C. 716-747.
18. Ginocchio C. C., McAdam A. J. Current best practices for respiratory virus testing //Journal of clinical microbiology. – 2011. – T. 49. – №. 9_Supplement. – C. S44-S48.
19. Lee S. H. et al. Emerging ultrafast nucleic acid amplification technologies for next-generation molecular diagnostics //Biosensors and Bioelectronics. – 2019. – T. 141. – C. 111448.
20. Kang T. et al. Advances in nucleic acid amplification techniques (NAATs): COVID-19 point-of-care diagnostics as an example //Biosensors and Bioelectronics. – 2022. – C. 114109.
21. Buermans H. P. J., Den Dunnen J. T. Next generation sequencing technology: advances and applications //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. – 2014. – T. 1842. – №. 10. – C. 1932-1941.
22. Houldcroft C. J., Beale M. A., Breuer J. Clinical and biological insights from viral genome sequencing //Nature Reviews Microbiology. – 2017. – T. 15. – №. 3. – C. 183-192.
23. Shen, C.-H. (2019). Amplification of Nucleic Acids. Diagnostic Molecular Biology, 215–247. doi:10.1016/b978-0-12-802823-0.00009-2
24. Xie N. G. et al. Designing highly multiplex pcr primer sets with simulated annealing design using dimer likelihood estimation (saddle) //Nature communications. – 2022. – T. 13. – №. 1. – C. 1881.
25. Phan M. V. T. et al. Identification of missed viruses by metagenomic sequencing of clinical respiratory samples from Kenya //Scientific reports. – 2022. – T. 12. – №. 1. – C. 202.

БИОИНФОРМАЦИОННЫЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ СОБЫТИЙ И НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ, ИНИЦИИРОВАННЫХ ТРАНСФОРМАЦИЕЙ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, НА ОСНОВЕ СОВРЕМЕННЫХ ГЕНОМНЫХ И ПОСТГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Е.В. Пескова

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия

Современные биотехнологии обеспечивают широкомасштабные фундаментальные исследования живых систем, а именно, изучение структурно-функциональной организации генома, протеома, транскриптома и др. Благодаря дальнейшему развитию постгеномных технологий появилась возможность построения реалистичных и прогностических моделей для оценки рисков здоровью и профилактики негативных последствий [1].

Протеомные исследования в настоящее время играют ведущую роль среди омиксных технологий, вследствие этого белки и пептиды заняли ключевую позицию при изучении физиологических и патологических процессов на клеточно-молекулярном уровне – от каталитических биохимических реакций метаболизма до обработки и интеграции молекулярных сигналов [2]. Характеристика изменений белковой композиции биосред, в первую, очередь плазмы крови, используется для изучения молекулярного ответа организма человека на существующие условия среды обитания, прогноза потенциальных негативных эффектов на самой ранней стадии их возникновения до развития признаков и симптомов клеточно-органного повреждения [3, 4]. Инновационные методы исследования белкового профиля позволяют расширить фундаментальные представления о механизмах поддержания гомеостаза, баланс которого может нарушаться при воздействии различных факторов риска среды обитания, в том числе химических [5].

В методологии изучения воздействия химического фактора на развитие негативных эффектов широко применяются экспериментальные исследования, позволяющие смоделировать «чистую» экспозицию с исключением мешающих факторов. Это дает возможность изучить патогенетическую структуру и особенности механизмов формирования исследуемых процессов в условиях, адекватных реальным [6]. Использование мелких грызунов (крыс) в качестве модельных объектов является целесообразным, так как они характеризуются высокой генетической гомологией с человеком [7]. Понимание того, как у сходных по видообразованию организмов изменяется белковый профиль имеет существенное значение для прогнозирования негативных эффектов со стороны здоровья человека [8, 9, 10].

Для решения задач повышения эффективности профилактики и устранения негативных последствий, связанных с воздействием химических веществ, в том числе комбинированным, актуальным является разработка подходов к распознаванию последовательности молекулярных и клеточных событий, инициированных трансформацией белково-пептидного профиля плазмы крови [8, 11]. Для этого необходимо исследовать причинно-следственные связи воздействия веществ с изменением экспрессии белков и кодирующих их генов, участвующих в общих патогенетических механизмах изменения процессов метаболизма.

Цель исследования: построение биоинформационной матрицы для распознавания последовательности молекулярно-клеточных событий и негативных эффектов, инициированных трансформацией протеомного профиля плазмы крови человека в условиях аэрогенного комбинированного воздействия химических веществ (на примере оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена).

Материалы и методы. На основе реализации разработанного алгоритма построения структурных биоинформационных матриц для распознавания последовательности молекулярных и клеточных событий и негативных эффектов, инициированных трансформацией белково-пептидного профиля плазмы крови человека при воздействии химического фактора среды обитания, выполнен прогноз развития негативных эффектов, метаболический путь которых связан с изменением экспрессии белков и кодирующих их генов. Алгоритм построения структурной биоинформационной матрицы представлен на рисунке 1.

Рис. 1. Алгоритм построения структурной биоинформационной матрицы для распознавания последовательности молекулярно-клеточных событий и негативных эффектов, инициированных трансформацией протеомного профиля плазмы крови человека, при воздействии химического фактора среды обитания

В данном исследовании биоинформационная матрица построена на примере распознавания молекулярно-клеточных событий у детей, подвергающихся длительной аэрогенной комбинированной экспозиции бенз(а)пиреном, фторидом водорода и оксидом алюминия (натурные исследования). В качестве биологической модели выбраны крысы линии Wistar, подвергающиеся комбинированной и изолированной ингаляционной экспозиции

изучаемыми химическими веществами в дозах, эквивалентных реальным условиям (экспериментальные исследования).

На первом этапе исследование включало эксперименты длительностью 180 дней. Ингаляционное поступление веществ моделировали с помощью системы с использованием камеры для всего тела. Концентрации химических веществ в ингаляционной камере соответствовали среднесуточным с годовым периодом осреднения, установленным при реальной хронической аэрогенной экспозиции для населения (среднесуточная концентрация оксида алюминия – 0,0004 мг/м^3, фторида водорода – 0,0015 мг/м^3, бенз(а)пирена – 0,000002 мг/м^3). Животных разделили на пять групп по шесть особей в каждой. В опытную группу 1 вошли животные, получавшие ингаляционно аэрозоль оксида алюминия (Al_2O_3) в дозе 0,0025 мг/(кг х день), в группу 2 – фторид водорода (HF) в дозе 0,012 мг/(кг х день), в группу 3 – бенз(а)пирен ($C_{20}H_{12}$) в дозе 0,00001 мг/(кг х день). В группу 4 включены животные, подвергавшиеся ингаляционной комбинированной экспозиции изучаемыми химическими веществами ($Al_2O_{3+}HF+C_{20}H_{12}$) в дозах, соответствующих их изолированному поступлению. В контрольную группу вошли крысы, содержавшиеся в аналогичных условиях, но не подвергавшиеся ингаляционному воздействию. Через 24 часа после последнего воздействия производился отбор крови у животных из подъязычной вены в объеме 3 см^3. Отбор мочи для дальнейшего исследования осуществлялся в метаболической клетке в течение суток. Экспериментальные исследования на биологической модели проведены с соблюдением требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123) и этического комитета ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (протокол заседания № 1 от 4.02.2021).

Для оценки трансформации протеомного профиля в реальных условиях проведено обследование 30 детей в возрасте 4-7 лет. Из них 20 детей подвергались длительной комбинированной экспозиции оксидом алюминия (в дозе 0,0006 мг/(кг·день)), фторидом водорода (0,003 мг/(кг·день)) и бенз(а)пиреном ((0,000003 мг/(кг·день)) с атмосферным воздухом – группа наблюдения. Для сравнительного анализа обследованы 10 детей, не подвергающихся экспозиции изучаемыми химическими веществами – группа сравнения. Критерием включения детей в группу наблюдения являлось повышенное содержание изучаемых химических веществ в биосредах, в группу сравнения – содержание веществ в биосредах соответствует минимальным или референтным (Rfl) значениям (алюминий в моче Rfl = 0,0065 мг/дм^3, фторид-ион в моче Rfl = 0,2 мг/дм^3, бенз(а)пирен в крови = 0,0 мг/дм^3) [12]. Отбор биологических жидкостей у детей осуществляли посредством забора крови из локтевой вены натощак и получения утреней порции мочи. Обследование детей выполнено с соблюдением этических принципов Хельсинской декларации (2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (протокол заседания № 1 от 4.02.2021).

Оценку содержания алюминия в моче проводили согласно МУК 4.1.3589-19 на масс-спектрометре Agilent 7500cx методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Концентрацию фторид-иона в моче измеряли с использованием лабораторного иономера И-160М в соответствии с МУК 4.1.773-99. Уровень бенз(а)пирена в крови определяли на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором согласно МУК 4.1.3040-12.

С использованием программного пакета Statistica 10 выполнена статистическая обработка полученных данных. Сравнительный анализ проведен между опытными и контрольной группами животных, детей групп наблюдения и сравнения. Результаты исследований представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Статистическую значимость различий переменных между группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни (U) с заданным уровнем достоверности $p \leq 0,05$. Для выявления и оценки причинно-следственных связей между изменением интенсивности белковых пятен и концентрациями изучаемых химических веществ в биосредах использовались модели линейной регрессии. Оценка достоверности и адекватности полученных моделей оценивали с применением F-критерия Фишера, коэффициента детерминации (R^2) и t-критерия Стьюдента при заданном условии достоверности $p \leq 0,05$ [13].

Второй этап включал протеомное исследование плазмы крови экспериментальных животных и обследованных детей. 2D-электрофорез в полиакриламидном геле проводился в два этапа – изоэлектрофокусирование (система PROTEAN I12 IEF System) и электрофорез в полиакриламидном геле (камера Protean II xi 2D cell). Полученные электрофореграммы визуализировали методом окрашивания серебром. Определение интенсивности белковых пятен проводили с помощью гель-документирующей системы GeL Doc XR. С использованием программного обеспечения PDQuest проводился сопоставительный анализ протеомных карт. Белковые пятна, достоверно отличающиеся между группами по критерию интенсивности, выделяли и вырезали для дальнейшего исследования. Для определения аминокислотных последовательностей фрагментов индивидуальных белков проводился масс-спектрометрический анализ с помощью системы UltiMate 3000 методом ВЭЖХ и масс-спектрометра AB Sciex 4000 QTRAP с источником ионизации NANOspray III. С использованием программ ProteinPilot и Mascot с выборкой по таксонам Rattus norvegicus (Rat) и Homo Sapience (Human) производилась обработка полученных масс-спектров и их последующий анализ.

На третьем этапе в протеомных профилях плазмы крови обследованных детей и экспериментальных животных выделены белки, обоснованные в качестве тождественных. Прогнозирование негативных эффектов основано на анализе информации полученной с помощью биоинформационных ресурсов. База данных UniProt (http://www.uniprot.org) являлась основным источником информации о полученных белках. С помощью ресурса The Gene Ontology (http://geneontology.org/) выполнена генная онтология белков. С использованием ресурсов

GeneCards (https://www.genecards.org/) и Rat Genome Database (https://rgd.mcw.edu/rgdweb/homepage/) собрана информация о генах, кодирующих обнаруженные белки. Данные о тканях, в которых выявленные белки имеют повышенную экспрессию, получены с помощью платформы Tissue expression database (https://tissues.jensenlab.org/Search). Прогноз негативных эффектов, метаболический путь которых связан с экспрессированными белками и кодирующими их генами, основывался на информации, полученной с использованием ресурсов Comparative Toxicogenomics Database (http://ctdbase.org/) и DisGeNET (https://www.disgenet.org/dbinfo).

Результаты и обсуждение. По результатам экспериментальных исследований установлено, что средняя концентрация бенз(а)пирена в крови при комбинированной экспозиции изучаемыми веществами, составила 0,0002±0,000 мг/дм^3, изолированной экспозиции – 0,00001±0,000 мг/дм^3, в то время как в крови крыс контрольной группы содержание данного вещества не обнаружено (p = 0,0001-0,008). При сравнительном анализе содержания фторид-иона в моче экспериментальных животных установлено статистически значимое увеличение, относительно контроля, концентрации данного элемента при изолированной экспозиции в 19,4 раза, при комбинированной – в 5,9 раза (p = 0,0001-0,003). Установлено, что концентрация алюминия в моче крыс при изолированной и комбинированной экспозиции превысила в 3,5 и 1,2 раза соответственно средний уровень контрольной группы (p = 0,008-0,047), (таблица 1).

Таблица 1. Концентрация химических веществ в биосредах экспериментальных животных и детей группы наблюдения и сравнения

Исследуемая группа	Концентрация химического вещества в биосреде, мг/дм^3		
	Алюминий в моче	Фторид-ион в моче	Бенз(а)пирен в крови
Экспериментальные исследования			
Опытная группа 1 (Al_2O_3)	$0,057\pm0,029^{p*=0,008}$	-	-
Опытная группа 2 (HF)	-	$6,800\pm4,362^{p=0,003}$	-
Опытная группа 3 ($C_{20}H_{12}$)	-	-	$0,00001\pm0,000^{p=0,008}$
Опытная группа 4 (Al_2O_3+ HF+$C_{20}H_{12}$)	$0,019\pm0,010^{p=0,047}$	$2,072\pm0,752^{p=0,0001}$	$0,00002\pm0,000009^{p=0,0001}$
Контрольная группа	0,016±0,013	0,354±0,171	0,000±0,000
Натурные исследования			
Группа наблюдения	$0,008\pm0,0018^{p=0,004}$	$0,711\pm0,173^{p=0,004}$	$0,000006\pm0,000001^{p=0,041}$
Группа сравнения	0,004±0,0006	0,460±0,137	0,000004±0,000001

Примечание: *p – достоверность различий между группами.

В результате натурных исследований установлено, что у детей группы наблюдения, подвергавшихся комбинированной аэрогенной экспозиции, в биосредах зарегистрированы повышенные 1,5-1,9 раза концентрации изучаемых веществ относительно показателей сравнения (p=0,0001-0,041).

При денситометрическом исследовании и сравнительном анализе протеомных карт плазмы крови животных установлено, что интенсивность 15 белковых пятен достоверно отличалась относительно контроля при экспозиции оксидом алюминия (p = 0,000-0,002), 13

белковых пятен – фторидом водорода (p = 0,0001-0,003) и 11 белковых пятен – бенз(а)пиреном (p = 0,0001-0,007). При комбинированной экспозиции изучаемыми веществами выявлено 23 белковых пятна, достоверно различающихся между опытной и контрольной группами (p = 0,0001-0,027). В результате масс-спектрометрической идентификации всего комплекса достоверно отличающихся белковых пятен, выявленных в эксперименте, установлено, что они соответствуют 40 белкам библиотечного масс-спектра. Из них выявлено 2 белка, а именно Аполипопротеин A-I (ген ApoA1) и Транстиретин (ген Ttr), встречающихся во всех экспериментальных группах и их экспрессия достоверно увеличивалась при повышении концентрации веществ в биосредах (R^2=0,24-0,92; p=0,0001-0,037), (таблица 2).

Таблица 2. Интенсивность Аполипопротеина A-I (ген ApoA1) и Транстиретина (ген Ttr), установленных в условиях экспериментальных и натурных исследований

Исследуемая группа	Интенсивность белкового пятна, int.	
	Аполипопротеин A-I	Транстиретин
Экспериментальные исследования		
Опытная группа 1 (Al_2O_3)	3925±283 $^{p=0,0001}$	2671±413 $^{p=0,001}$
Опытная группа 2 (HF)	3086±96 $^{p=0,0001}$	2808±605 $^{p=0,002}$
Опытная группа 3 ($C_{20}H_{12}$)	3215±39 $^{p=0,0001}$	2341±84 $^{p=0,0001}$
Опытная группа 4 (Al_2O_3+ HF+$C_{20}H_{12}$)	2227±333 $^{p=0,0001}$	4097±295 $^{p=0,0001}$
Контрольная группа	1436±184	1785±239
Натурные исследования		
Группа наблюдения	2435±148 $^{p=0,0001}$	3967±189 $^{p=0,0001}$
Группа сравнения	1248±253	2344±300

Примечание: *p – достоверность различий между опытной и контрольной группами.

В результате сопоставительного анализа протеомных профилей плазмы крови обследованных детей и последующей масс-спектрометрической идентификации выявлено 23 достоверно различающихся белковых пятна (p = 0,000-0,009), соответствующих 22 белкам библиотечного масс-спектра. Среди них обнаружены Аполипопротеин A-I (ген APOA1) и Транстиретин (ген TTR), которые тождественны белкам, установленным в протеомных картах плазмы крови групп экспериментальных животных и их экспрессия аналогично увеличивается при повышении концентрации алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена в биосредах (R^2=0,25-0,26; p=0,028-0,031).

Аполипопротеин A-I участвует в патогенезе развития ряда заболеваний, в том числе таких, как атеросклероз и гипертония. Функциональная активность данного белка усиливается при воспалительных реакциях для снижения уровня окислительных процессов, которые повышают риск развития атеросклероза [14, 15]. Взаимодействие Аполипопротеина A-I с ферментами семейства параоксоназ приводит к их стабилизации и активации, что предотвращает окисление липопротеинов и снижает образования ПОЛ [16]. Следовательно, повышение экспрессии Аполипопротеина A-I свидетельствует о наличие воспалительных процессов в организме, сопровождающихся активацией реакций окисления.

Основная физиологическая функция Транстиретина заключается в транспорте тироксина и комплекса ретинолсвязывающего белка [17]. Он является маркером развития таких заболеваний, как транстиретиновый амилоидоз и гипертиреоз. В крови Транстиретин находится в виде тетрамерной формы – комплекса из четырех одинаковых молекул. Экспрессия данного белка увеличивается как защитный фактор против окислительного стресса, включающий механизмы устранения повреждения, направленные на репарацию, удаление или замещение поврежденных молекул. Однако увеличенная экспрессия Транстиретина приводит к внеклеточному отложению патологического нерастворимого фибриллярного белка, вследствие чего это приводит к возникновению амилоидоза тканей, их последующей атрофии и функциональным нарушениям [18].

Выявленные негативные эффекты в виде окислительного стресса и воспалительных реакций, подтвержденные увеличением экспрессии Аполипопротеина А-I и Транстиретина, имеют общий метаболический путь с негативными процессами, вызванными токсическим действием изучаемых веществ. Механизм токсичности алюминия, главным образом, связана с его прооксидантной активностью, которая обуславливает развитие окислительного стресса клеточных белков и липидов [19]. Фтор способен оказывать влияние на мембраны клеток, включая генерацию супероксидных анионов, митохондриальную токсичность, индукцию апоптоза, повышенный стресс эндоплазматического ретикулума, что приводит к возникновению воспалительных процессов [20]. Воздействие бенз(а)пирена на клетки в основном приводит к повреждению ДНК и окислительному стрессу за счет увеличения продукции АФК, запуску перекисного окисления липидов и развития реакции воспаления [21].

На основе полученных результатов исследования влияния изучаемых веществ (оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена) на экспрессированные белки и кодирующие их гены (Аполипопротеин А-I (ген APOA1) Транстиретин (ген TTR)), построена биоинформационная матрица молекулярно-клеточных событий, позволившая спрогнозировать метаболические нарушения в тканях сердечно-сосудистой и нервной систем (рисунок 2).

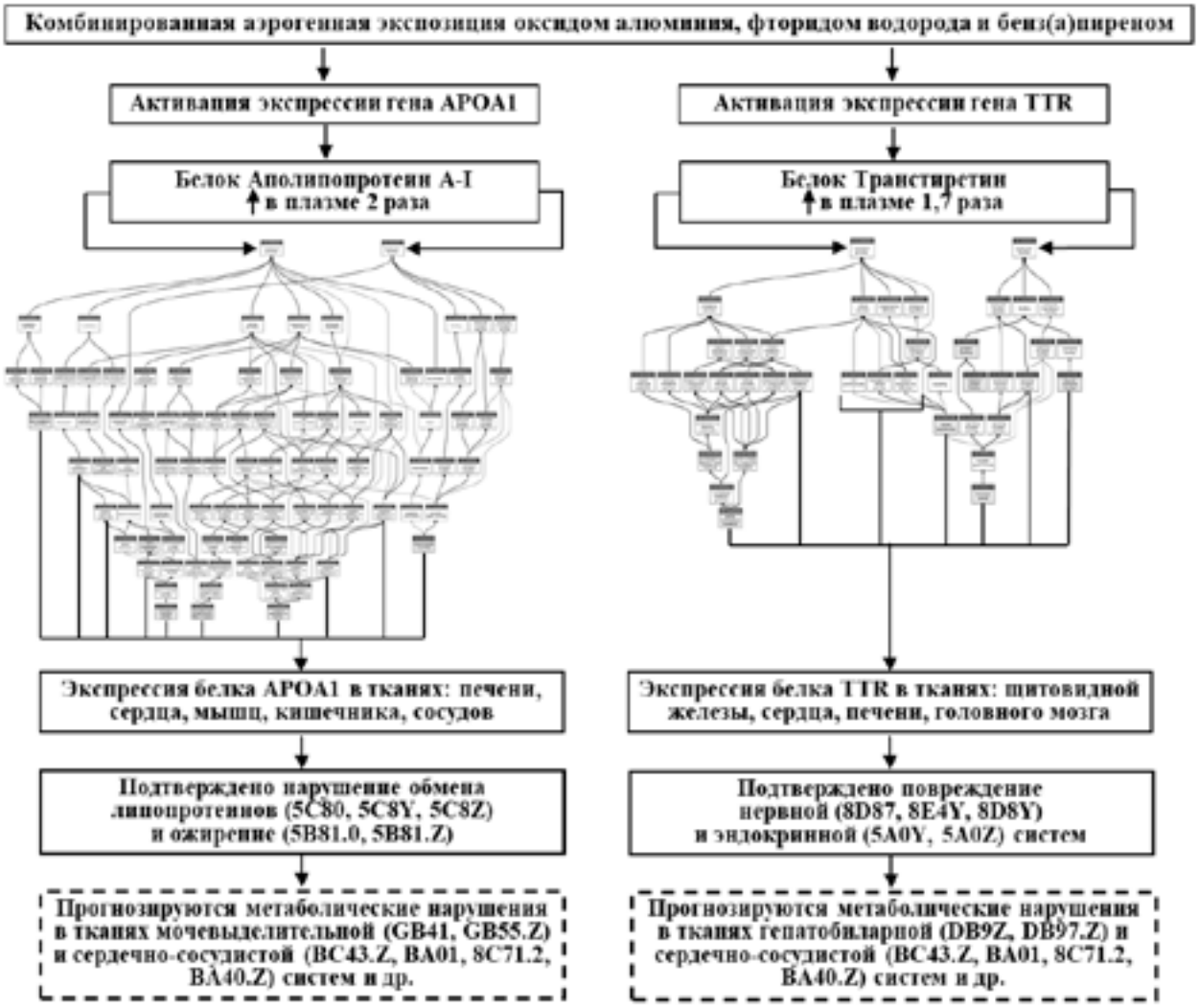


Рис. 2. Структурная биоинформационная матрица для распознавания последовательности молекулярных и клеточных событий и негативных эффектов, инициированных трансформацией белково-пептидного профиля плазмы крови человека при воздействии оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена с атмосферным воздухом

Заключение. В результате реализации предложенного алгоритма установлено, что при аэрогенной комбинированной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном увеличивается экспрессия двух белков – Аполипопротеин A-I (ген APOA1) и Транстиретин (ген TTR). Повышение концентрации изучаемых химических веществ в биосредах увеличивает риск возникновения окислительного стресса и воспалительных процессов в организме, подтверждением чего является повышенная экспрессия выявленных белков. На основе полученных результатов построена биоинформационная матрица, позволившая спрогнозировать метаболические нарушения в тканях сердечно-сосудистой и нервной систем, биохимические механизмы развития которых обусловили изменение экспрессии Аполипопротеина A-I и Транстиретина. Использование биоинформационной матрицы повышает эффективность применения постгеномных технологий в области профилактической медицины

на основе расширения знаний о молекулярно-клеточных механизмах вовлечения трансформированного протеомного профиля в модификацию патогенеза развития неинфекционных заболеваний при воздействии химического фактора среды обитания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Madeira C., Costa P.M. Proteomics in systems toxicology // Adv Protein Chem Struct Biol. – 2021. – Vol. 127. – P. 55-91. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2021.03.001.
2. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Долгих О.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99, № 1. – С. 6-12.
3. Anderson N.L., Anderson N.G. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. // Molecular and Cellular Proteomics. – 2002. – Vol.1, № 11. – P. 845-867.
4. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome / T.H. Corzett, I.K. Fodor, M.W. Choi, et al // J Biomed Biotechnol. – 2010. – Vol. 2010. – P. 258494. DOI: 10.1155/2010/258494.
5. Hilton I.B., Gersbach C.A. Enabling functional genomics with genome engineering // Genome Res. – 2015. – Vol. 25, № 10. – P. 1442-1455.
6. Соседова Л.М., Филиппова Т.М. Роль биомоделирования в системе химической безопасности человека // Экология человека. – 2017. – Т. 24, №7. – С. 46-52.
7. Rat Genome Sequencing Project Consortium. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution // Nature. – 2004. – Vol. 428. – P. 493-521.
8. Создание биоинформационной матрицы молекулярных маркеров для прогнозирования риск-ассоциированных нарушений здоровья / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова, Е.В. Пескова, Н.И. Булатова // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 2. – С. 174-184.
9. Liang X., Martyniuk C.J., Simmons D.B.D. Are we forgetting the "proteomics" in multi-omics ecotoxicology? // Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics. – 2020. – Vol. 36. – P. 100751.
10. Землянова, М.А. Протеомное профилирование плазмы крови при хронической экспериментальной экспозиции оксидом алюминия как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека / М.А. Землянова, Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Гигиена и санитария. – 2023. – Т. 102, № 10. – С. 1125-1131.
11. Пескова Е.В., Кольдибекова Ю.В. Оценка изменений протеомного профиля плазмы крови детей, подвергающихся воздействию алюминия и бенз(а)пирена с атмосферным воздухом // Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения – 2022: мат. Всеросс. научно-практич. интернет-конф. молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с междунар. уч-ем / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2022. – С. 252-259.
12. Тиц Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. – М.: ЮНИМЕД–пресс, 2003. – 960 с.

13. Гланц С. Медико-биологическая статистика; под ред. Н.Е. Бузикашвили и соавт. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

14. A thumbwheel mechanism for APOA1 activation of LCAT activity in HDL / A.L. Cooke, J. Morris, J.T. Melchior, et al. // J Lipid Res. – 2018. – Vol. 59, № 7. – P. 1244-1255.

15. Guo Q., Zhang C., Wang, Y. Overexpression of apolipoprotein A-I alleviates endoplasmic reticulum stress in hepatocytes // Lipids Health Dis. – 2017. – Vol. 16, №1. – P. 105.

16. Kontush A., Chapman M.J. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis // Pharmacol Rev. – 2006. – Vol. 58, № 3. – P. 342-374.

17. Li X., Buxbaum J.N. Transthyretin and the brain re-visited: is neuronal synthesis of transthyretin protective in Alzheimer's disease? // Mol Neurodegener. – 2011. – Vol. 6. – P. 79.

18. Wieczorek E., Ożyhar A. Transthyretin: From Structural Stability to Osteoarticular and Cardiovascular Diseases // Cells. – 2021. –Vol. 10, № 7. – P. 1768.

19. Exley C. Human exposure to aluminium // Environ Sci Process Impacts. – 2013. – Vol. 15. – P. 1807-1816.

20. Toxicity of fluoride: critical evaluation of evidence for human developmental neurotoxicity in epidemiological studies, animal experiments and in vitro analyses / S. Guth, S. Hüser, A. Roth, et al. // Arch Toxicol. – 2020. – Vol. 94, №5. – P. 1375-1415.

21. Multifaceted Protective Effects of Hesperidin by Aromatic Hydrocarbon Receptor in Endothelial Cell Injury Induced by Benzo[a]Pyrene / J. Duan, C. Chen, H. Li, et al. // Nutrients. – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. 574.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ КАРДИОФИБРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА С ПОДЪЕМОМ СЕГМЕНТА ST И СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С ПРОМЕЖУТОЧНОЙ (СНПФВ) И СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА (СНСФВ)

Т.Б. Печерина, д.м.н., доцент

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

Цель: определить молекулярно-генетические детерминанты развития кардиофиброза у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST) и сердечной недостаточностью с промежуточной (СНпФВ) и сохраненной фракцией выброса левого желудочка (СНсФВ)

Материалы и методы. В проспективное когортное исследование было включено 100 пациентов с диагнозом ИМпST СНпФВ (ФВ ЛЖ 40-49%) и СНсФВ (50 и более %). Эхокардиографическое исследование проводилось всем пациентам на первые, 10-12-е сутки и. через год от ИМпST. У всех пациентов при поступлении в стационар и в динамике на 10-12-е сутки от начала заболевания проводилось определение концентраций в сыворотке крови маркеров: коллагена-1 (Col-1), галектин-3; N-терминального мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP); растворимого белка семейства рецепторов ИЛ-1 (sST2), матриксных металлопроетиназ-1, 2 и 3 (ММП), тканевого ингибитора матриксной метталопротеиназы-1 (ТИМП-1), а также полиморфных вариантов (SNP) rs7023329 гена *MTAP,* rs4986819 гена *PARP4,* rs2075555 и rs1107946 гена *COL1A1,* rs514921 гена *MMP1,* rs17576 гена *MMP9.*

Результаты. Пациенты фенотипа СНсФВ чаще встречались в группе «кардиофиброз ≥5%». Определено, что показатели: «конечный диастолический размер» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 0,4 см больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0010); «конечный диастолический индекс» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 14,4 мл/м2 больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0008); «конечный систолический размер» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 0,5 см больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0006). Установлено, что «ST-2» (1-е сутки) в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 11,4 нг/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0422); «COL-1» (1-е стуки) в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 28112,3 пг/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0020), «Nt-proBNP» (12-е сутки) в группе «кардиофиброз <5%» в среднем на 1,9 фмоль/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз ≥5%» (p=0,0339). Частота генотипа GC полиморфного варианта rs4986819 гена *PARP4* (45,5% vs 13,3% соответственно, p=0,0206), также как частота генотипа GG полиморфного варианта rs7023329 гена *MTAP* (33,3% vs 0,0% соответственно, p=0,0004) ассоциировались с кардиофиброзом ≥5%.

Выводы. У пациентов фенотипа СНпФВ чаще через год от ИМпST диагностировался кардиофиброз до 5%, в то время как для пациентов фенотипа СНсФВ – чаще кардиофиброз от 5% и выше. Пациенты групп сравнения с кардиофиброзом <5% и ≥5% не отличались между собой по половозрастным, анамнестическим характеристикам. Значения COL-1 и ST-2, определенны на 1-е сутки ИМпST значимо превалировали в группе пациентов с кардиофиброзом ≥5%, а значения NT-proBNP (12-е сутки) – в группе пациентов с кардиофиброзом <5%. Гены, относящиеся к фибро- и атерогенеза (*PARP4* и *MTAP*) были ассоциированы с большим процентом фиброзной ткани миокарда (кардиофиброз ≥5%).

Ключевые слова: биологические маркеры, фиброз миокарда, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, сохранная и промежуточная функция левого желудочка.

В последние годы основное внимание уделяется фиброзу миокарда (кардиофиброзу) как главному компоненту большинства ССЗ. Эндомиокардиальная биопсия, являющаяся золотым стандартом диагностики фиброза миокарда, имеет ограничения с точки зрения клинического применения, тогда как МРТ и биомаркеры кажутся более простыми и безопасными подходами с точки зрения диагностики, терапевтического мониторинга и прогнозирования неблагоприятных исходов [1]. Результаты большинства ранее проведенных исследований доказали ассоциацию фиброза миокарда с прогрессированием патологического ремоделирования миокарда и развитием неблагоприятных исходов в отделенном периоде после ИМ [1, 2]. Острый ИМ приводит к внезапной массовой гибели кардиомиоцитов, вызывает интенсивное воспаление и увеличение экспрессии коллагена в ЭЦМ, что приводит к формированию рубцовой ткани и, как следствие, предотвращает ткань от разрыва. Однако длительный или чрезмерный фиброгенез может привести к чрезмерному отложению коллагена в ЭЦМ, что приводит к увеличению жесткости миокарда, его ригидности, и прогрессирующему ухудшению диастолической и систолической функции ЛЖ [3,4]. Исследования доказали очевидную роль кардиофиброза в этиологии всех форм СН и, в частности, в патофизиологии фенотипа СНсФВ [5, 6]. Среди множества факторов, способствующих развитию СНсФВ, фиброз является одним из наиболее значимым, который существует независимо от этиологии. У пациентов с симптоматической СНсФВ кардиофиброз коррелирует с диастолической дисфункцией, жесткостью миокарда, нарушениями ритма, госпитализацией и смертностью у пациентов с фенотипом СНсФВ, что делает его привлекательной терапевтической мишенью [7]. Мало изучен кардиофиброз у пациентов «серой» зоны СН (у пациентов с фенотипом СНпФВ) – данный факт диктует дальнейшее изучение кардиофиброза и его предикторной роли в формировании фенотипов СН и развития неблагоприятных событий [8].

Материал и методы. В рамках проспективного когортного исследования, организованного на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», последовательно в течение 2015 г включены 100 пациентов с диагнозом ИМпST. Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practive) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования одобрен объединенным локальным этическим комитетом учреждения. Критериями включения в данное исследование явились: подписанное пациентом информированное согласие; возраст >18 лет и < 75 лет; установленный диагноз ИМпST, успешное чрескожное коронарное вмешательство; фракция выброса ≥40%, острая сердечная недостаточность по Killip - I. Критерии исключения: наличие клинически значимой сопутствующей патологии [печеночной недостаточности, острой или хронической почечной недостаточности, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), острого инфекционного

заболевания или обострения хронических, психических заболеваний, аутоиммунных заболеваний, онкологических заболеваний, заболеваний надпочечников и щитовидной железы]; ИМпST, возникший как осложнение чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) или коронарного шунтирования (КШ); возраст ≥ 75 лет; тяжесть острой сердечной недостаточности по Killip – II-IV, фракция выброса <40%, смерть больного в первые сутки госпитализации.

У всех больных проводили сбор демографических, клинических, анамнестических данных, а также стандартные исследования, включая общий и биохимический анализы крови, электрокардиологическое исследование. Коронарография (КГ) пациентам выполнена на ангиографическом аппарате INNOVA 3100 (США) при поступлении с индексным ИМ, а также через год. Эхокардиографическое исследование проводилось всем пациентам на первые и 10-12-е сутки госпитализации на аппарате Sonos 2500 (Hewlett Packard, США).

Через год после ИМпST проводилась магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с контрастированием (гадолиний) на Т1 взвешенных изображениях в отсроченной фазе, являющаяся предпочтительным методом в оценке кардиального фиброза на на МР-томографе Exelart Atlas 1.5 (Toshiba, Япония) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тесла.

Для выполнения настоящего исследования на основании данных научных публикаций были выбраны однонуклеотидные маркеры (SNP), локализованные в генах, для которых показаны изменение уровня экспрессии при заболеваниях, связанных с фиброзом различных органов, а также в генах, ассоциированных: с фиброзом миокарда; атеросклерозом и стабильностью атеросклеротической бляшки; эндотелиальной дисфункцией. Генотипирование проведено с помощью масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY® (США). Были определены полиморфные варианты (SNP) rs7023329 гена *MTAP,* rs4986819 гена *PARP4,* rs2075555 и rs1107946 гена *COL1A1,* rs514921 гена *MMP1,* rs17576 гена *MMP9.*

У всех пациентов при поступлении в стационар и в динамике на 10-12-е сутки от начала заболевания проводилось определение концентраций в сыворотке крови маркеров: связанных с изменениями внеклеточного матрикса, ремоделирования и фиброза [матриксная металлопроетиназа-1, 2 и 3 (ММП), тканевой ингибитор матриксной метталопротеиназы-1 (ТИМП-1), галектин-3, коллаген-1]; связанных с нейро-гормональной активацией [N-терминальный мозговой натрийуретический пропептид (NT-proBNP)]; связанных с повреждением кардиомиоцитов [растворимый белок семейства рецепторов ИЛ-1 (sST2)] в сыворотке крови методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа с помощью лабораторных наборов BCM Diagnostics (США).

Статистическую обработку данных исследования осуществляли с помощью программы Statistica версии 8.0 (StatSoft, Inc, США) и в среде R с применением пакетов «stats» и «genetics». Применяли стандартные методы описательной статистики.

Медиана возраста пациентов в общей группе больных ИМпST составила 57 (52; 63) лет. Из 100 больных - 74 мужчин (74 %). Превалирующими анамнестическими факторами сердечно-сосудистого риска явились: АГ – у 70 (70,0%) пациентов, курение - у 56 (56%) больных, СД 2-го типа встречался у 11 (11%) больных. По результатам анамнестических данных около половины пациентов имели клинические проявления ИБС: стенокардию - 31 (31%) больных, ИМ – 5 (5%) пациентов, при этом ЧКВ в анамнезе проводились лишь 3 (3%) пациентам. Хроническая сердечная недостаточность ранее диагностирована у 12 (12%) больных. У 22 (22%) пациентов имелась ранее диагностированная гиперхолестеринемия. Большая часть пациентов имела избыточную массу тела (ИМТ>25 кг/м^2) – 71 случай (71%). Средняя продолжительность госпитального периода у обследованных больных составила 14 (12; 18) дней.

Анализ качества медикаментозной терапии у пациентов на догоспитальном этапе продемонстрировал, что аспирин принимали 9% пациентов, β-адреноблокаторы – 11% пациентов, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) – 11% пациентов и статины - 4% пациентов. Во время госпитализации все больные получали терапию с учетом рекомендаций по диагностике и лечению больных острым ИМпST [ESC 2015], включавшую: β-адреноблокаторы, дезагреганты, иАПФ, по показаниям также назначались диуретические препараты, блокаторы кальциевых каналов. Так, ацетилсалициловая кислота была назначена 99% пациентам, клопидогрель – 83% пациентам, тикагрелор – 25% пациентам, β-адреноблокаторы – 97% пациентам, иАПФ – 77% пациентам, статины принимали 94% пациентов. Системная тромболитическая терапия в 11% случаях была проведена на догоспитальном этапе. Согласно данным коронарографии большинство пациентов имело гемодинамически значимое поражение (стеноз коронарной артерии >50%) одного сосудистого бассейна – 41%, поражение 2-х коронарных сосудистых бассейнов выявлено у 33% пациентов, и в 26% процентах случаев диагностировано многососудистое поражение коронарных артерий. Всем пациентам проведена реваскуляризация симптомзависимой артерии.

В период госпитализации у больных ИМпST были оценены неблагоприятные сердечно-сосудистые события: жизнеугрожающие нарушения ритма и проводимости (желудочковая тахикардия, фибрилляция желудочков, атриовентрикулярная блокада II-III степени, синоатриальная блокада) – у 8 (8,0%) больных, отек легких – у 2 (2,0%) пациентов, кровотечения из места пункции лучевой артерии у 2 (2%) пациентов, в 2х случаях (2,0%) диагностирована перфорация коронарной артерии, ранняя постинфарктная стенокардия развилась у 1 (1,0%) пациента, рецидив ИМ - у 1 (1%) пациента, кардиогенный шок - у 1 (1,0%) пациента. Смертельных исходов не зарегистрировано.

Результаты исследования. Была проведена МРТ с контрастированием, по результатам которой был оценен процент фиброзной ткани по отношению к здоровому миокарду. Так медиана распределения процента фиброзной ткани составила 5 [1,5; 14] %. В последующем для анализа выбрано пограничное значение фиброза миокарда – 5%: ≥5% фиброз диагностирован у 38 пациентов, в то время как 2-я группа пациентов <5% – у 46 пациентов.

После уравнивая факторов по количеству доступных для анализа наблюдений, были сформированы группы: фиброз ≥ 5% диагностирован у 35 пациентов и фиброз <5% – 38 пациентов. Определены медианные значения процента фиброзной ткани в группах сравнения: кардиофиброз <5% - 1,00 [0,00; 3,00] %; кардиофиброз ≥5% - 13,00 [9,00; 36,00] %; p<0,0001. Выявлено что, достоверно чаще в группе пациентов «кардиофиброз <5%» встречались пациенты с фенотипом СНпФВ чем в группе «кардиофиброз ≥5%»: 89% vs 54%, p=0,0013 (рисунок 1). Соответственно, пациенты фенотипа СНсФВ чаще встречались в группе «кардиофиброз ≥5%». При этом пациенты двух групп (по % фиброзной ткани миокарда) не отличались по половозрастному составу, анамнезу и терапии на догоспитальном этапе.

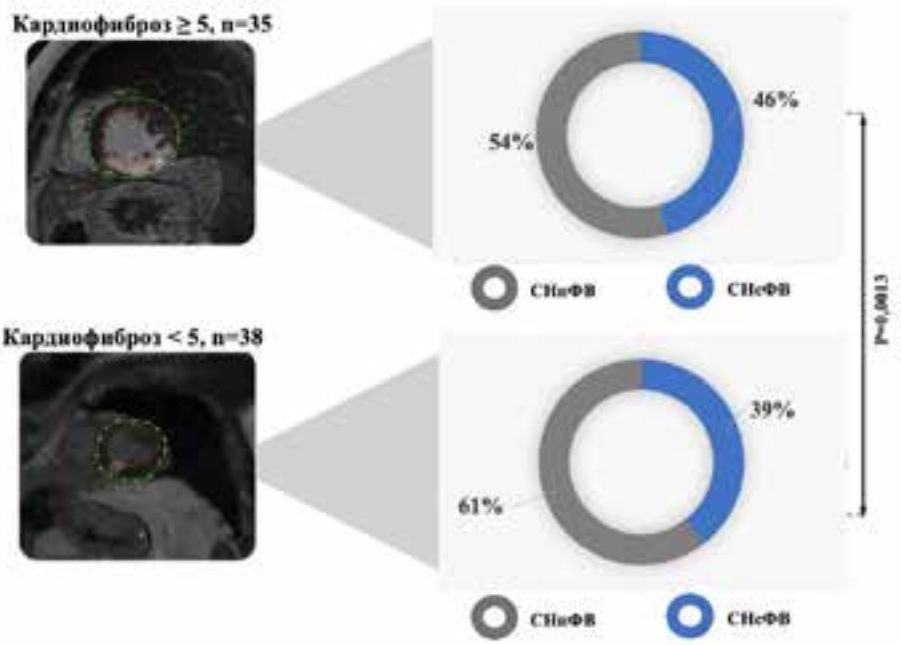


Рисунок 1. Распределение фенотипов СН в группах по % фиброзной ткани миокарда

Согласно анализу данных ЭХО-КГ было установлено, что пациенты группы «фиброз миокарда ≥5%» имели худшие значения показателей систолической и диастолической функции ЛЖ – таблица 1. Определено, что показатели: «КДР (см)» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 0,4 см больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0010); «КДИ, мл/м2» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 14,4 мл/м2 больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0008); «КСР (см)» в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 0,5 см больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0006).

Таблица 1. Результаты ЭХО-КГ (годовой этап) в группах сравнения по % фиброзной ткани миокарда

Показатель	Группы сравнения		Уровень Р
	Кардиофиброз <5%, n=32	Кардиофиброз ≥5%, n=35	
ФВ (%)	61,93 ± 7,57	55,38 ± 8,26	0,0027
КДР (см)	5,31 ± 0,42	5,75 ± 0,54	0,0010
КСР (см)	3,53 ± 0,54	4,07 ± 0,64	0,0006
КДО (мл)	122,43 ± 27,69	139,79 ± 21,77	0,2625
КСО (мл)	54,31 ± 21,86	75,62 ± 30,14	0,0011
ЛП (см)	4,07 ± 0,33	4,19 ± 0,27	0,0484
ПЖ (см)	1,85 ± 0,10	1,88 ± 0,19	0,8542
МЖП (см)	1,09 ± 0,11	1,10 ± 0,16	0,5827
ЗСЛЖ (см)	1,08 ± 0,11	1,09 ± 0,14	0,9552
Аорта восходящая (см)	3,47 ± 0,28	3,50 ± 0,27	0,4349
УО (мл)	82,85 ± 8,70	89,23 ± 12,93	0,0616
КДИ (мл/м2)	69,16 ± 9,52	83,58 ± 15,30	0,0008
КСИ (мл/м2)	26,20 ± 9,58	36,95 ± 10,46	0,0013
ИММ (г/м2)	109,64 ± 27,15	132,21 ± 23,73	0,0077
Рмакс АК (мм рт ст)	7,86 ± 4,35	6,59 ± 2,52	0,2617
ДЛА (мм. рт. ст.)	23,62 ± 4,88	26,23 ± 5,07	0,1504
Е (см/с)	59,25 ± 18,31	52,39 ± 16,57	0,2271
А (см/с)	67,25 ± 12,14	70,67 ± 15,81	0,4922
Е/А	0,89 ± 0,29	0,80 ± 0,39	0,0958
ВИР (мс)	115,17 ± 16,31	125,17 ± 16,14	0,0595
DT (м/с)	211,05 ± 33,13	215,18 ± 42,37	0,9028
АТ (м/с)	126,80 ± 10,92	129,80 ± 26,88	0,8519
ЕТ (м/с)	509,90 ± 108,30	480,60 ± 112,05	0,9511
DE (м/с)	235,00 ± 31,99	236,60 ± 43,51	0,8539
DA (м/с)	146,00 ± 22,19	163,20 ± 16,57	0,1534
IVCT (м/с)	87,40 ± 14,79	93,80 ± 13,97	0,5192
Кровоток в легочных венах (см/с) S	50,22 ± 10,67	51,20 ± 8,58	0,7386
Кровоток в легочных венах (см/с) D	32,00 ± 7,16	38,20 ± 7,26	0,2038
Индекс Теи	0,43 ± 0,12	0,40 ± 0,25	0,9023
Диастолическая жесткость	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,1158
Sфкмк (см/с)	7,00 ± 1,22	8,00 ± 1,00	0,1084
Em	7,60 ± 1,52	6,00 ± 1,00	0,0678
Am	8,60 ± 2,30	8,40 ± 1,14	1,0000
Em/Am	0,93 ± 0,30	2,28 ± 3,52	0,5296
E/Em	8,38 ± 2,71	8,14 ± 2,85	0,8065
СРМП (см/с)	51,36 ± 10,44	50,47 ± 17,16	0,8985

Примечания: ФВ - фракция выброса, КДО - конечный диастолический объем, КСО - конечный систолический объем, КСР - конечный систолический размер, КДР - конечный диастолический размер, КДИ – конечный диастолический индекс, КСИ – конечный систолический индекс, ДЛА – среднее давление в легочной артерии, КДД – конечное диастолическое давление, УО – ударный объем, ММ – масса миокарда, ИММ- индекс массы миокарда, ЛП – левое предсердие, ПП – правое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ВИР – время изоволюмической релаксации, Е – скорость раннего диастолического наполнения ЛЖ, А – скорость позднего диастолического наполнения левого желудочка, Е/А – отношение раннего и позднего трансмитрального потока,

DT - время замедления раннего диастолического наполнения, АТ – время ускорения раннего диастолического наполнения, ЕТ – период изгнания, Em – скорость раннего диастолического движения миокарда, Am – скорость позднего диастолического движения миокарда, Em/Am – отношение скоростей раннего и позднего диастолического движения миокарда, E/e' - соотношение Е-волны кровотока на митральном клапане к e'-волне (отношение раннего движения кольца митрального клапана), СРМП – скорость распространения раннего митрального потока, Em/СРМП – отношение скорости раннего диастолического транстрикуспидального потока к скорости его распространения.

КАГ проводилась при индексной госпитализации и через год. Не было выявлено значимого прогрессирования коронарного атеросклероза на годовом периоде наблюдения. Пациенты обеих групп не различались между собой по тяжести поражения коронарных артерий, что исключило возможное самостоятельное влияние коронарного атеросклероза на развитие кардиофиброза.

Далее был проведен корреляционный анализ между параметрами Эхо-КГ, МРТ с одной стороны и концентрацией изучаемых биомаркеров – с другой. Установлена прямая корреляционная связь между значением ST-2 с одной стороны и % кардиофиброза – с другой (r=0,25, p=0,0517) и обратная связь с ФВ ЛЖ, измеренной на 1-е, 12-е сутки ИМ и через год – рисунок 2. Аналогичные корреляционные связи были выявлены для биоамаркера COL-1 – рисунок 3. Уровень NT-proBNP, измеренный на 12-е сутки, напротив, обратно коррелировал с ФВ ЛЖ во всех точках ее оценки – рисунок 3.

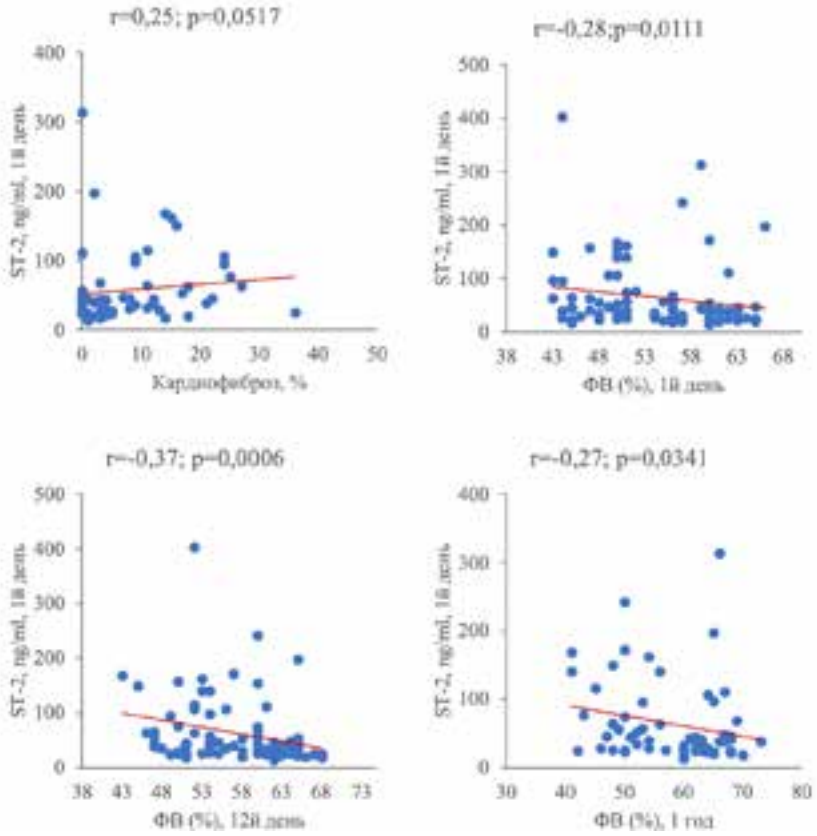


Рисунок 2. Корреляционный анализ значений ST-2 с данными ЭХО-КГ и МРТ

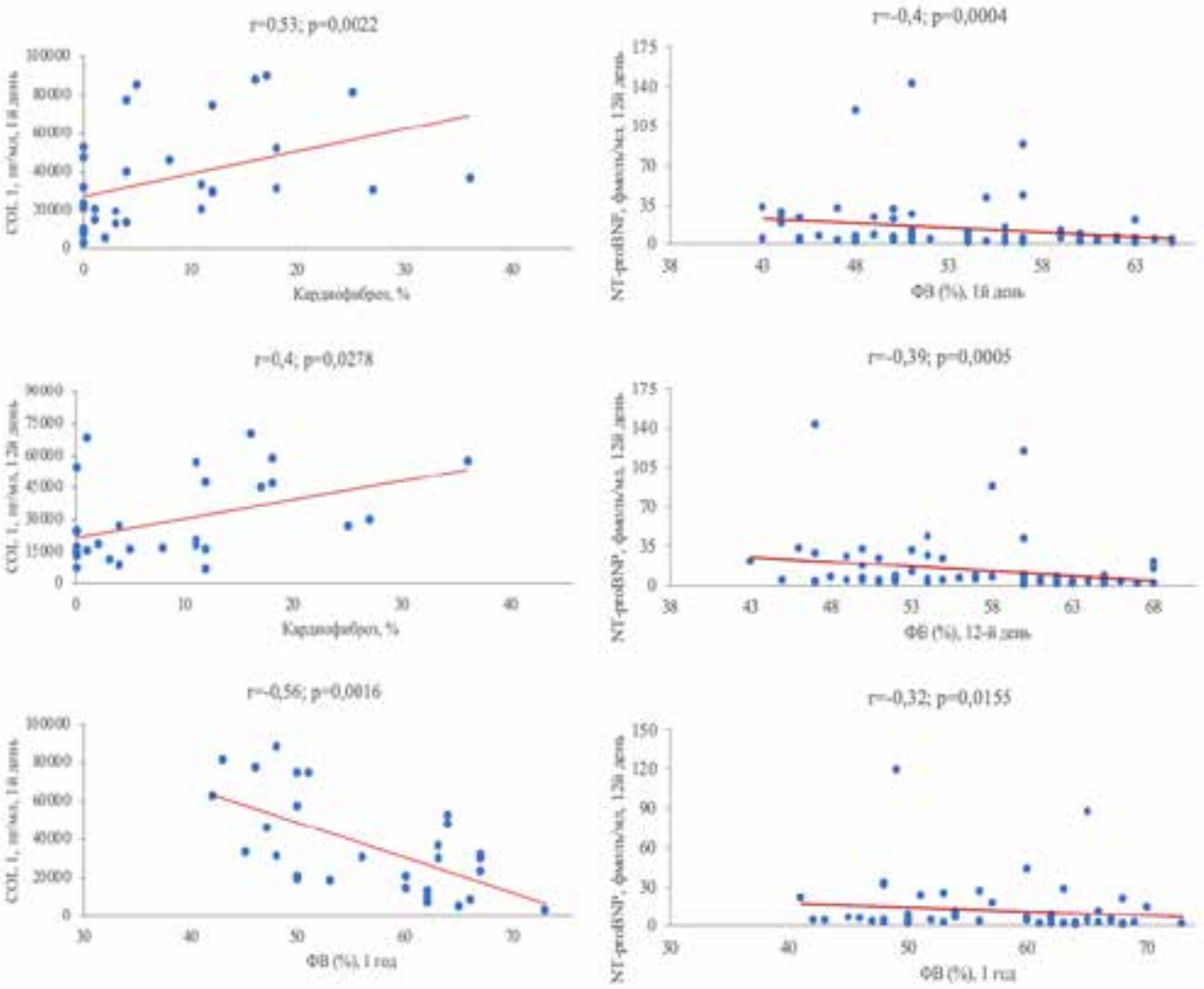


Рисунок 3. Корреляционный анализ значений COL-1 и NT-proBNP с данными ЭХО-КГ и МРТ

При межгрупповом анализе концентраций биологических маркеров на госпитальном и годов этапах наблюдения в группах сравнения по % фиброзной ткани миокарда определено, что наиболее значимые различия обнаружены для показателей: «ST-2» (1-е сутки) в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 11,4 нг/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0422); «COL-1» (1-е стуки) в группе «кардиофиброз ≥5%» в среднем на 28112,3 пг/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз <5%» (p=0,0020), «Nt-proBNP» (12-е сутки) в группе «кардиофиброз <5%» в среднем на 1,9 фмоль/мл больше по отношению к группе «кардиофиброз ≥5%» (p=0,0339) – рисунок 4. Большие значения Nt-proBNP в группе пациентом с меньшим % фиброзной ткани миокарда может быть связан с наличием большего числа в ней пациентов с фенотипом СНпФВ (рисунок 4). По остальным изучаемым биомаркерам достоверных различий в группах сравнения по % фиброзной ткани миокарда выявлено не было.

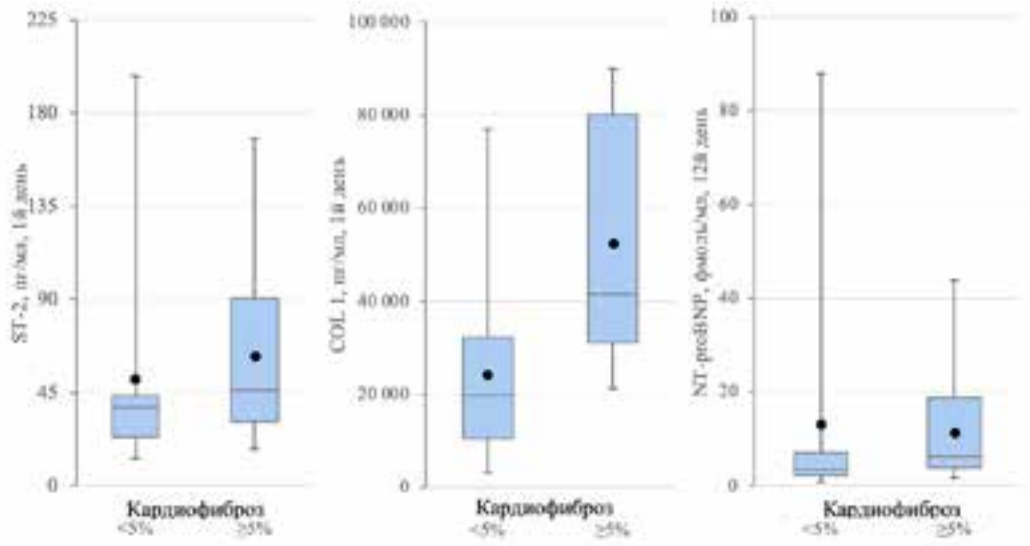


Рисунок 4. Распределение биомаркеров в группах сравнение по % фиброзной ткани миокарда

Анализ генетических параметров показал, что ген метаболизма нуклеиновых кислот, участвующие в фиброгенезе различных органов (*PARP4*), а также ген энергетического метаболизма – участник атерогенеза (*MTAP*) - ассоциировались с кардиофиброзом ≥5%.

Наибольшие различия между группами наблюдаются по частоте генотипа GC полиморфного варианта rs4986819 гена *PARP4*, которое преимущественно встречается в группе «кардиофиброз ≥5%» по сравнению с группой «кардиофиброз <5%» (45,5% vs 13,3% соответственно, p=0,0206) – рисунок 5. Также различия определены между группами наблюдаются по частоте генотипа GG полиморфного варианта rs7023329 гена *MTAP*, которая преимущественно встречается в группе «кардиофиброз ≥5%» по сравнению с группой «кардиофиброз <5%» (33,3% vs 0,0% соответственно, p=0,0004) – рисунок 5.

Рисунок 5. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs4986819 гена *PARP4* и rs7023329 гена *MTAP* у пациентов в группах сравнения

Дискуссия. Кардиофиброз является одним из основных паттернов развития СНсФВ и в меньшей степени – СНпФВ [8]. После ИМ активируется ряд механизмов, включая нейрогормоны, провоспалительные цитокины, а также местные реакции, приводящие к ремоделированию и фиброзу миокарда, с последующим развитием СН. В нескольких исследованиях причинно-следственная связь между концентрацией NT-proBNP и процентом кардиофиброза не была четко установлена [11]. В фиброзном миокарде, который менее податлив, чем нормальный миокард ЛЖ, непропорционально увеличивается напряжение на здоровый миокард, способствующее высвобождению еще большего количества NTproBNP [11]. В нашем исследовании более высокие значения NTproBNP наблюдались в группе пациентов с кардиофиброзом <5%, которая была представлена большим числом пациентов с фенотипом СНпФВ. В исследование Schelbert с соавторами [9], было включено 1174 пациентов с СН, у 250 пациентов диагностирован фенотип СНсФВ и повышенные значения BNP. Сравнительный анализ показал, что пациенты СНсФВ продемонстрировали более высокую распространенность кардиофиброза и худший прогноз, чем пациенты без СН [9]. Также было показано, что клиническому диагнозу СНсФВ, предшествовал диагностированный фиброз миокарда. Противоположные результаты были продемонстрированы в исследовании Quick [15] с соавторами, в которое было включено 156 пациентов, направленных на МРТ с целью диагностики ИБС или миокардита. По итогам данного исследования, не было получено существенной разницы между значениями sST2 для пациентов контрольной группы и пациентов с ИБС или миокардитом. Концентрация sST2 показала слабую корреляцию с функциональным классом NYHA ($P = 0,002$, $r = 0,22$), а также не выявлено корреляции для показателей МРТ или с параметрами ЭХО-КГ. Напротив, NT-proBNP положительно коррелировал с параметрами левого желудочка и функциональным классом СН по NYHA ($P < 0,05$). Кроме того, он показал обратную зависимость с ФВЛЖ ($P < 0,001$, $r = -0,42$). Авторы сделали вывод, что sST2 не способен диагностировать кардиофиброз и не должен использоваться как единственный маркер в диагностике фиброза миокарда. В исследовании на когорте пациентов с СН sST2 был независимым предиктором смерти от всех причин и повторных госпитализаций по поводу декомпенсации СН для всех трех фенотипом СН, что может указывать на то, что фиброз миокарда может быть потенциальным патогенезом в том числе и для фенотипа СНпФВ [14]. Доказано, что sST2 к ИЛ-33 предотвращает положительное влияние этого интерлейкина на уменьшение гибели клеток и развитие фиброза. И хотя несколько исследований продемонстрировали высокую прогностическую ценность sST2 для пациентов с СН, вместе с тем существует меньше доказательств его прогностической ценности после ИМ [12, 15, 16]. Еще один

маркер, исследования которого указывают на потенциальную клиническую применимость в диагностике степени фиброза миокарда, является COL-1 [17-19, 21]. В исследовании in vitro на мышах была воссоздана модель миокардита и диллатационной кардиомиопатии – определены более высокие значения коллагена типа I-A1 (COL1-A1), коллагена типа III-A1 (COL3-A1), а также ММП-9 в группе наблюдения [19]. В исследовании Querejeta [20] было установлено, что увеличение синтеза и отложения COL-1 в миокарде приводит к усилению фиброза миокарда и к ухудшению сердечной функции у пациентов с АГ, в сочетании с СН. Результаты исследования, проведенного в Финляндии, демонстрируют, что синтез COL-1 типа в миокарде был повышен у пациентов с внезапной сердечной смертью, связанной с кардиофиброзом [22-25].

Генетические полиморфизмы генов ассоциированные с ИМ, кардиофиброзом и СН активно вовлечены в исследовательские программы разных стран. Так, в исследовании 432 пациентов с ИМ, организованном в Китае, была обнаружена значимая ассоциация на уровне SNP rs7027989 гена MTAP у мужчин с риском развития ИМ. Риск ИМ увеличился на 26% (P = 0,005) для мужчин носителей минорных аллелей. Причем, повышенный риск ИМ при наличии минорной аллели полиморфного варианта rs7027989 гена *MTAP* оставался значительным после поправки на сопутствующие факторы [26]. В исследовании Гончаровой [27], в котором приняли участие 156 пациентов с ИБС, было выявлено что гены белков-регуляторов активности компонентов экстрацеллюлярного матрикса (*MTAP*, *PARP4*), участвующие в процессах фиброгенеза, вносят самостоятельный вклад в развитие предрасположенности к ИМ и дестабилиизации атеросклеротической бляшки.

Выводы. У пациентов фенотипа СНпФВ чаще диагностировался кардиофиброз до 5%, в то время как для пациентов фенотипа СНсФВ – чаще кардиофиброз от 5% и выше. Пациенты групп сравнения с кардиофиброзом <5% и ≥5% не отличались между собой по половозрастным, анамнестическим характеристикам. Было установлено, что пациенты с кардиофиброзом ≥5% имели худшие значения показателей систолической и диастолической функции ЛЖ по данным Эхо-Кг и МРТ через год от ИМпST. В исследовании было выявлено, что пациенты с кардиофиброзом ≥5% чаще принимали антагонисты минералокортикоидных рецепторов во всем периоде наблюдения, включая период до госпитализации по поводу индексного ИМ. Значения COL-1 и ST-2, которые были определены на 1-е сутки от ИМ значимо превалировали в группе пациентов с кардиофиброзом ≥5%, а значения NT-proBNP (12-е сутки) – в группе пациентов с кардиофиброзом <5%. Гены, относящиеся к фибро- и атерогенеза (PARP4 и MTAP) были ассоциированы с большим процентом фиброзной ткани миокарда (кардиофиброз ≥5%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Nikolaos G Frangogiannis, Cardiac fibrosis, Cardiovascular Research, Volume 117, Issue 6, 1 June 2021, Pages 1450–1488, https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa324

2. Gao XM , White DA , Dart AM , Du XJ. Post-infarct cardiac rupture: recent insights on pathogenesis and therapeutic interventions. Pharmacol Ther 2012;134:156–179.

3. Frangogiannis NG. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. Circ Res. (2012) 110:159–73. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.243162

4. Ytrehus K, Hulot JS, Perrino C, Schiattarella GG, Madonna R. Perivascular fibrosis and the microvasculature of the heart. Still hidden secrets of pathophysiology? Vascu Pharmacol. (2018) 107:78–83. doi: 10.1016/j.vph.2018.04.007

5. Targeting cardiac fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction: mirage or miracle? Mark Sweeney, Ben Corden,Stuart A Cook EMBO Mol Med (2020)12:e10865. https://doi.org/10.15252/emmm.201910865"

6. González A, Schelbert EB, Díez J, Butler J (2018) Myocardial interstitial fibrosis in heart failure: biological and translational perspectives. J Am Coll Cardiol 71: 1696–1706

7. Kosmala W, Marwick TH (2020) Asymptomatic left ventricular diastolic dysfunction: predicting progression to symptomatic heart failure. JACC Cardiovasc Imaging 13: 215–227

8. Heart Failure with Mid-Range Ejection Fraction – State of the Art Evandro Tinoco Mesquita, Letícia Mara dos Santos Barbetta, Eduardo Thadeu de Oliveira Correia. Arq Bras Cardiol. 2019; 112(6):784-790

9. Schelbert EB, Fridman Y, Wong TC, et al. Temporal Relation Between Myocardial Fibrosis and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Association With Baseline Disease Severity and Subsequent Outcome. JAMA Cardiol. 2017;2(9):995–1006. doi:10.1001/jamacardio.2017.2511

10. Schelbert EB, Sabbah HN, Butler J, Gheorghiade M. Employing extracellular volume cardiovascular magnetic resonance measures of myocardial fibrosis to foster novel therapeutics. Circ Cardiovasc Imaging. 2017;10(6):e 005619.

11. Rubi´s, P.; Dziewi ˛ecka, E.; Szyma ´nska, M.; Bany´s, R.; Urba ´nczyk-Zawadzka, M.; Krupi ´nski, M.; Mielnik, M.; Wi´sniowska-Smiałek, ´ S.; Karabinowska, A.; Podolec, P.; et al. Lack of Relationship between Fibrosis-Related Biomarkers and Cardiac Magnetic Resonance-Assessed Replacement and Interstitial Fibrosis in Dilated Cardiomyopathy. Cells 2021, 10, 1295. https://doi.org/10.3390/cells 10061295

12. Jenkins WS, Roger VL, Jaffe AS, Weston SA, AbouEzzeddine OF, Jiang
R, Manemann SM, Enriquez-Sarano M. Prognostic value of soluble ST2after myocardial infarction: a community perspective. Am J Med 2017; 130: 1112.e9–e15"

13. Asleh R, Enriquez-Sarano M, Jaffe AS, Manemann SM, Weston SA, Jiang R, Roger VL. Galectin-3 levels and outcomes after myocardial infarction: a
population-based study. J Am Coll Cardiol 2019; 73: 2286–2295.

14. Song Y, Li F, Xu Y, Liu Y, Wang Y, Han X, et al. Prognostic value of sST2 in patients with heart failure with reduced, mid-range and preserved ejection fraction. Int J Cardiol. (2020) 304:95–100. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.01.039

15. Quick S, Waessnig NK, Kandler N, Poitz DM, Schoen S, Ibrahim K, Strasser RH, Speiser U. Soluble ST2 and myocardial fibrosis in 3T cardiac magnetic resonance. Scand Cardiovasc J. 2015;49(6):361-6. doi: 10.3109/14017431.2015.1076936. Epub 2015 Aug 18. PMID: 26287645.

16. Yasmina Filali, Y. Antero Kesäniemi & Olavi Ukkola (2021) Soluble ST2, a biomarker of fibrosis, is associated with multiple risk factors, chronic diseases and total mortality in the OPERA study, Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 81:4, 324-331, DOI: 10.1080/00365513.2021.1904518.

17. Prognostic potential of cardiac structural and functional parameters and N-terminal propeptide of type III procollagen in predicting cardiac fibrosis one year after myocardial infarction with preserved left ventricular ejection fraction. Anastasia Osokina, Viktoria Karetnikova, Olga Polikutina, Anna Ivanova, Olga Gruzdeva, Yulia Dyleva, Aleksandr Kokov, Natalia Brel, Tamara Pecherina, Olga Barbarash.Aging, 2021; 113:194;DOI: 10.18632/aging.202495"

18. Biomarkers of myocardial fibrosis and their genetic regulation in patients with heart failure. T. B. Pecherina, A. G. Kutikhin. Russian Journal of Cardiology, 2020; 1025:3933; DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3933"

19. IL-22-producing Th22 cells play a protective role in CVB3-induced chronic myocarditis and dilatedcardiomyopathy by inhibiting myocardial fibrosis. Yujie Guo, Weifeng Wu*, Zhihong Cen, Xiaomo Li, Qing Kong and Qiuxi Zhou. Guo et al. Virology Journal (2014) 11:230. DOI 10.1186/s12985-014-0230-z"

20. Querejeta R, López B, González A, Sánchez E, Larman M, Martínez Ubago JL, Díez J. Increased collagen type I synthesis in patients with heart failure of hypertensive origin: relation to myocardial fibrosis. Circulation. 2004 Sep 7;110(10):1263-8. doi: 10.1161/01.CIR.0000140973.60992.9A. Epub 2004 Aug 16. PMID: 15313958.

21. Ureche C, Nedelcu AE, Sascău RA, Stătescu C, Kanbay M, Covic A. Role of collagen turnover biomarkers in the noninvasive assessment of myocardial fibrosis: an update. Biomark Med. 2020 Sep;14(13):1265-1275. doi: 10.2217/bmm-2020-0298. PMID: 33021388.

22. Eeva Hookana, M. Juhani Junttila, Kari S. Kaikkonen, Katja Porvari, Helena Kaija, Juha Risteli, Marja-Leena Kortelainen & Heikki V. Huikuri (2014) Increased type I collagen synthesis in victims of sudden cardiac death due to idiopathic myocardial fibrosis, Annals of Medicine, 46:5, 318-323, DOI: 10.3109/07853890.2014.898862

23. Myocardial Effects of Aldosterone Antagonism in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. Adam K. McDiarmid, Peter P. Swoboda, Bara Erhayiem, J Am Heart Assoc. 2020;9:e011521.https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011521

24. Effects of spironolactone on serum markers of fibrosis in people at high risk of developing heart failure: rationale, design and baseline characteristics of a proof-of-concept, randomised, precision-medicine, prevention trial. The Heart OMics in AGing (HOMAGE) trial

Pierpaolo Pellicori,João Pedro Ferreira,Beatrice Mariottoni. Volume22, Issue9. 2020. Pages 1711-1723. https://doi.org/10.1002/ejhf.1716"

25. Zhang Q, Cheng SS, Yan J, Chen XD, Wang XF, Yang XC. [Association between methylthioadenosine phosphorylase gene single nucleotide polymorphisms and myocardial infarction in Chinese Han ethnicity]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2010 Jan;31(1):83-6. Chinese. PMID: 20302706.

26. Genetic predisposition to myocardial infarction in different age groups. Goncharova I.A., Nazarenko M.S., Babushkina N.P., Markov A.V., Pecherina T.B., Kashtalap V.V., Tarasenko N.V., Ponasenko A.V., Barabarash O .L., Puzyrev V.P. Molecular biology. 2020.Vol. 54.No. 2.P. 224-232.

27. Genes of fibrogenesis in determination of preposition to myocardial infarction. I.A. Goncharova1,2 *, O.A. Makeeva1,2, M.V. Golubenko. MOLECULAR BIOLOGY Vol. 50 No. 1 2016

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИТИКАЗЫ

М.И. Пика, А.С. Черкашина, В.Г. Акимкин
Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва, Россия

Ключевые слова: *β-1,3-глюканаза, литиказа, рекомбинантный фермент, экспрессия, разрушение дрожжевых клеток, выделение ДНК*

Введение. Литиказа – фермент, относящийся к классу β-1,3-глюканаз (КФ 3.2.1.39) и катализирующий гидролиз глюканов, содержащих -1,3-связанные мономеры глюкозы. Глюканы являются одним из компонентов клеточной стенки дрожжей, их гидролиз, в свою очередь, приводит к разрушению клеточной стенки. β-1,3-глюканазы вырабатываются бактериями и грибами как часть внеклеточного комплекса ферментов, которые, действуя синергетически, способны лизировать жизнеспособные дрожжевые клетки [1]. Одним из таких продуцентов β-1,3-глюканаз являются актиномицеты *Cellulosimicrobium cellulans* [2]. Грибы и дрожжи обладают прочной и сложно устроенной клеточной стенкой, состоящей из хитина, хитозана, β-1,3- и β-1,6-глюкана, смешанного β-1,3-/β-1,4-глюкана, α-1,3-глюкана и гликопротеинов, эти компоненты образуют трёхмерную сеть из полисахаридов [3; 4]. Поэтому выделить ДНК из них сложнее, чем из бактериальных клеток или клеток млекопитающих, поскольку их клеточную стенку трудно разрушить с помощью традиционных методов экстракции, применяемых для бактерий или млекопитающих. Низкая эффективность выделения ДНК из клинического образца, содержащего клетки грибов, может быть причиной получения ложноотрицательного результата ПЦР. Известны следующие способы разрушения дрожжевых и грибных клеток: механическая гомогенизация (при помощи встряхивания со стеклянными шариками; размалывания с помощью ступки и пестика; ультразвука; френч-пресса), химические методы (щелочными химикатами, детергентами и ксантогенатами) и обработка литическими ферментами (глюканазами; хитиназами; протеазами) [5; 6; 7]. У механических методов гомогенизации, однако, есть недостатки: ограниченная масштабируемость, риск контаминации при работе с несколькими образцами, большую роль играет человеческий фактор, также возможна фрагментация геномной ДНК. Использование химических методов разрушения показало эффективность лишь на некоторых видах грибов и, кроме того, примеси, оставшиеся после этого этапа экстракции, могут значительно влиять на качество и чистоту ДНК и, следовательно, снизить чувствительность ПЦР. На практике использование ферментативной стадии предобработки образцов, содержащих дрожжевые патогены, позволяет облегчить процесс выделения нуклеиновых кислот дрожжевых возбудителей [8; 9]. Повышение эффективности методов выделения ДНК патогенов дрожжевой и грибковой природы с целью своевременного выявления патогена методами амплификации

нуклеиновых кислот и последующего назначения адекватной противогрибковой терапии является актуальной задачей.

Целью данной работы является получение уникальной оптимизированной последовательности гена, кодирующего литиказу (Lyt) из бактерий *C. cellulans*, экспрессия, выделение и очистка рекомбинантного фермента и оценка возможности его применения.

Материалы и методы. Ген белка литиказы получали методом сборки из длинных перекрывающихся праймеров [10]. Полученный фрагмент был клонирован в экспрессионный вектор pET20b, который содержит сигнальную последовательность pelB на N-конце для потенциальной периплазматической локализации и последовательность из 6 гистидинов на C-конце, что позволяет использовать аффинную хроматографию для очистки белка. С целью оптимизации условий экспрессии рекомбинантного фермента был проведен подбор экспрессионных штаммов-продуцентов (BL21 DE3 pLys, ER2566 и KRX), варьировались температура и длительность экспрессии. В результате фермент был проэкспрессирован в штамме клеток *E. coli* BL21 DE3 pLys, в растворимой форме и очищен методом металл-аффинной хроматографии. Полученный фермент использовался на стадии ферментативной предобработки клеток дрожжей для последующего выделения геномной ДНК. Содержимое пробирки, содержащей клинический образец, перемешивали на вортексе, отбирали 50 мкл, осаждали нерастворимые примеси центрифугированием в течение 5 минут при 6.0 rpm, отбирали надосадочную жидкость и ресуспендировали в 100 мкл суспензионного буфера (50 мМ Трис, pH 7.5). Затем добавляли 1 мкл раствора литиказы, конечная концентрация которой составила $8{,}6*10^{-3}$ мг/мл. Инкубировали 20 минут при 37°C, затем перемешивали содержимое пробирок на вортексе и прогревали 10 минут при 95°C для инактивации фермента, затем охлаждали пробирки во льду. Весь объем пробирки (100 мкл клеточной суспензии) использовали для выделения ДНК. Подготовка проб без ферментативной предобработки осуществлялась аналогичным образом, отличие состояло только в отсутствии стадии добавления раствора фермента. Эффективность выделения геномной ДНК оценивали в формате ПЦР в реальном времени по выявлению видоспецифических маркеров.

Результаты. Для получения рекомбинантной литиказы была разработана уникальная синтетическая последовательность гена. Для этого на первом этапе была проведена обратная трансляция фрагмента аминокислотной последовательности литиказы из *C. cellulans*. Затем был оптимизирован нуклеотидный состав последовательности с учётом частоты встречаемости кодонов для бактериальной системы экспрессии на основе клеток *E. coli*. Итоговая последовательность гена была получена методом сборки из длинных перекрывающихся праймеров [10]. Ген, кодирующий Lyt, был клонирован в плазмидный вектор pET20b для

прокариотической экспрессии в *E. coli*. В ходе подбора штаммов-носителей для экспрессии гена Lyt была исследована динамика накопления фермента Lyt при разных температурах (28°C и 37°C) и времени индукции белкового биосинтеза (4 и 24 ч). В целом фермент нарабатывался во всех штаммах-носителях *E. coli* BL21 DE3 pLys, ER2566 и KRX (**табл. 1**). Часть фермента экспрессировалась в растворимой форме, часть фермента агрегировала с образованием нерастворимой фракции. Проведение рефолдинга фермента из нерастворимой фракции не всегда позволяет получить его правильную конформацию, что особенно важно для эффективной работы фермента. Поэтому в данной работе для выделения фермента Lyt использовали только фракции растворимых белков клетки. Несколько большее содержание белка достигалось при культивировании штамма-продуцента BL21 DE3 pLys/pET20b-Lyt при 28°C. Несмотря на то, что доля целевого белка во фракции тотальных белков клетки при культивировании в течение 24 часов больше, чем при 4 часах, однако при экспрессии белка в течение 4 часов наблюдается более высокий выход белка в растворимой форме (**рис. 1**).

Таблица 1. Содержание фермента Lyt в штаммах-продуцентах относительно общего белка клетки

Штамм-носитель *E. coli*	Условия культивирования	Содержание белка Lyt, % *	Съем клеточной биомассы, г/л
BL21 DE3 pLys	**28°C, 4 часа**	**30.2**	**3.8**
	28°C, 24 часа	32.9	3.9
	37°C, 4 часа	29.1	2.3
	37°C, 24 часа	29.8	2.2
ER2566	28°C, 4 часа	21.0	6.0
	28°C, 24 часа	19.8	6.2
	37°C, 4 часа	21.1	4.4
	37°C, 24 часа	20.8	4.5
KRX	28°C, 4 часа	29.8	2.2
	28°C, 24 часа	29.9	2.3
	37°C, 4 часа	28.7	2.3
	37°C, 24 часа	28.9	2.5

***Примечание.** Данные получены при использовании программы «Image Lab v. 5.2.1» («Bio-Rad»)

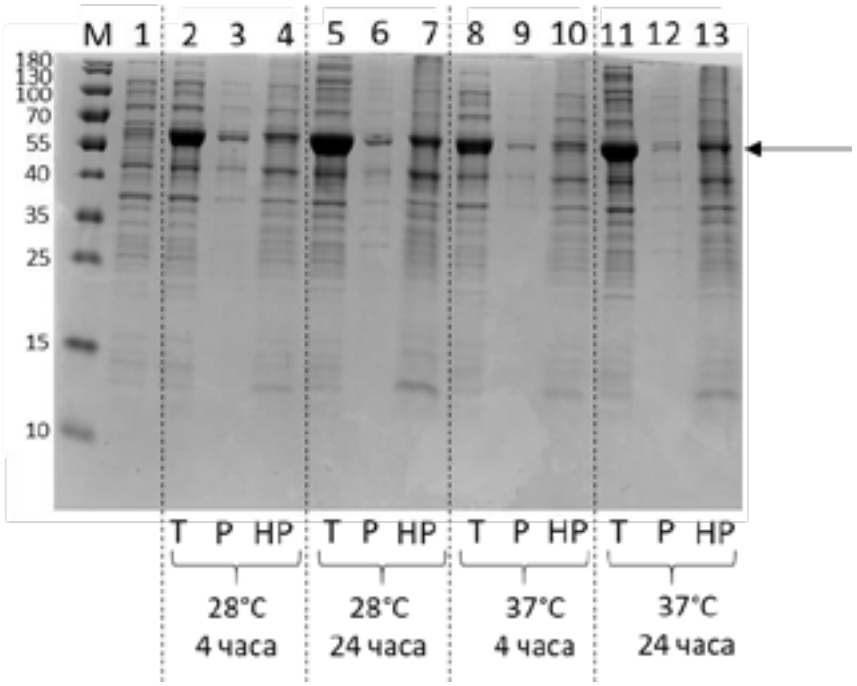


Рисунок 1. Экспрессия Lyt в клетках *E.coli* BL21 DE3 pLys. M – маркер молекулярных масс, 1 – проба до индукции, 2-13 – образцы (T – тотальный белок, P – растворимая фракция, HP – нерастворимая фракция)

Для очистки фермента от клеточных белков на первом этапе использовали металл-аффинную хроматографию в градиенте имидазола (сорбент IMAC FF). Фракции с чистотой более 90% (рис. 2-А) объединяли и проводили гель-фильтрационную хроматографию. Полученный фермент Lyt охарактеризован с использованием электрофореза в SDS-ПААГ. По данным электрофоретического анализа чистота фермента составила не менее 90% (рис. 2-Б).

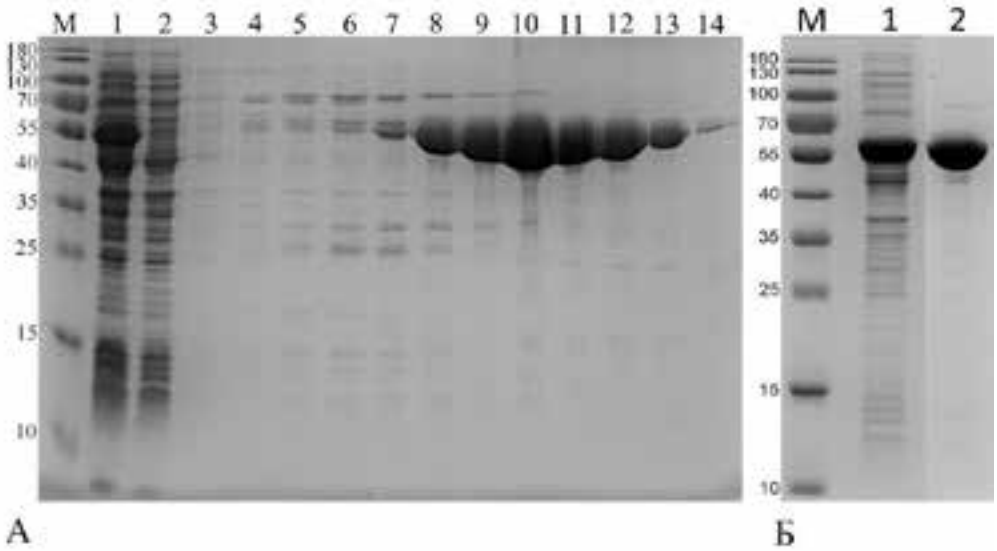


Рисунок 2.

А – хроматографическая очистка Lyt на сорбенте IMAC FF.
M – маркер молекулярных масс; 1 – осветлённый клеточный лизат штамма-продуцента BL21 DE3 pLys/pET20b-Lyt; 2 – балластные белки; 3–14 – фракции Lyt.
Б – получение и очистка Lyt

M – маркер молекулярных масс; 1 – тотальный клеточный лизат штамма-продуцента BL21 DE3 pLys/pET20b-Lyt; 2 – тотальная фракция Lyt после металл-аффинной и гель-фильтрационной хроматографии

Полученный фермент использовался на стадии ферментативной предобработки клеток дрожжей для последующего выделения геномной ДНК. Объектами экспериментов были клинические образцы, полученные от пациентов и представляющие собой соскоб из урогенитального тракта и находящиеся в транспортной среде для мазков, в которых предварительно с помощью ПЦР в реальном времени (с помощью набора АмплиСенс® Флороценоз / Кандиды-FL) была обнаружена ДНК *Candida albicans*. Эффективность выделения геномной ДНК оценивали в формате ПЦР в реальном времени по выявлению видоспецифических маркеров. Улучшение выделения геномной ДНК оценивали по разнице пороговых циклов проб с ферментативной предобработкой и без нее.

На первом этапе проводилась ферментативная предобработка клинических образцов, содержащих клетки дрожжей *C. albicans.* На втором этапе – выделение ДНК с помощью набора реагентов АмплиСенс® ДНК-сорб-АМ. После выделения ДНК проводилась мультиплексная ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией (ГФЛ-детекцией) продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью набора реагентов АмплиСенс® Флороценоз/Кандиды-FL. Этот набор позволяет одновременно выявлять и определять количественное содержание ДНК грибов рода *Candida.* По завершении реакции амплификации были получены графики накопления флуоресцентного сигнала по каналу FAM, свидетельствующие о накоплении продукта амплификации фрагмента ДНК *C. albicans* (рисунок 3). В таблице 2 приведены значения полученных пороговых циклов (Ct) и разницы пороговых циклов (ΔCt). В случае проб, прошедших ферментативную предобработку литиказой, ДНК *C. albicans* выявляется на значимо более ранних циклах, сдвиг по Ct составляет порядка 4-5 циклов. Такие результаты позволяют предположить, что введение этапа ферментативной предобработки проб позволит повысить чувствительность наборов реагентов в формате ПЦР в реальном времени, направленных на выявление патогенов дрожжевой или грибковой природы.

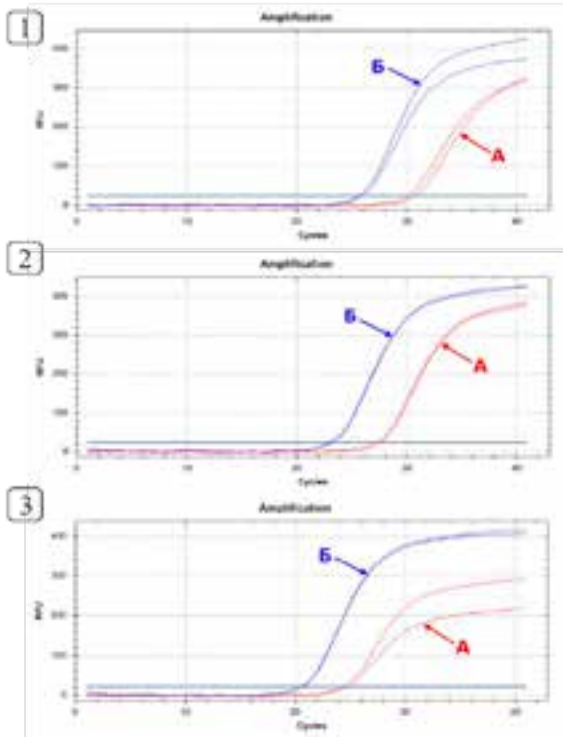


Рисунок 3. Графики накопления флуоресцентного сигнала по каналу FAM
1, 2 и 3 – номер клинического образца, А – результат амплификации ДНК, выделенной без стадии предобработки рекомбинантным ферментом литиказой, Б – результат амплификации ДНК, выделенной с добавлением стадии ферментативной предобработки литиказой Lyt.

Таблица 2. Значения пороговых циклов и разницы пороговых циклов.

Объект	Ct (FAM) без ферментативной предобработки (значение ± СО)	Ct (FAM) после ферментативной предобработки (значение ± СО)	ΔCt (FAM)
Клинический образец №1	30,36 ± 0,35	25,66 ± 0,14	4,7
Клинический образец №2	27,36 ± 0,01	23,12 ± 0,09	4,24
Клинический образец №3	24,65 ± 0,30	20,56 ± 0,02	4,09

Заключение

В данной работе была разработана уникальная нуклеотидная последовательность гена литиказы из *C. cellulans*, которая обеспечивает возможность синтеза рекомбинантного белка в растворимой форме в клетках *E. coli* за счет оптимизации кодонного состава. В работе была проведена оптимизация условий культивирования литиказы: наибольший выход белка в растворимой форме наблюдался в штамме BL21 DE3 pLys при 28°C, в течение 4 часов культивирования при индукции ИПТГ. Разработанная процедура очистки фермента, позволяет

получить препарат с чистотой более 90%. Выход целевого фермента составил 19.6 мг с литра культуральной среды.

Предложена лабораторная методика ферментативной предобработки клеток дрожжей для последующего выделения геномной ДНК с помощью любых наборов для выделения (в работе использовались наборы АмплиСенс® ДНК-сорб-АМ и АмплиСенс® РИБО-преп (данные не приводятся)).

Использование стадии ферментативной предобработки клинических образцов, содержащих клетки дрожжей *C. albicans,* с помощью полученного рекомбинантного фермента Lyt позволило получить сдвиг пороговых циклов в сторону уменьшения значений на 4-5 циклов в экспериментах в формате мультиплексной ПЦР с ГФЛ-детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. Такие результаты свидетельствуют о том, что разработанная структура гена и протокол наработки, выделения и очистки литиказы позволяют получить активный фермент с выходом до 19.6 мг с литра культуральной среды. Дальнейшие исследования на образцах, содержащих грибные патогены разных видов позволят сделать вывод о возможности использования этапа ферментативной предобработки проб с целью повышения чувствительности наборов реагентов в формате ПЦР в реальном времени, направленных на выявление патогенов дрожжевой или грибковой природы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Obata T. et al. The Synergistic Effects among β-, 3-Glucanases from Oerskovia sp. CK on Lysis of Viable Yeast Cells //Agricultural and Biological Chemistry. – 1977. – Т. 41. – №. 4. – С. 671-677.
2. Ferrer P. Revisiting the Cellulosimicrobium cellulans yeast-lytic β-1, 3-glucanases toolbox: A review //Microbial cell factories. – 2006. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-8.
3. Free S. J. Fungal cell wall organization and biosynthesis //Advances in genetics. – 2013. – Т. 81. – С. 33-82.
4. Latgé J. P. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell //Molecular microbiology. – 2007. – Т. 66. – №. 2. – С. 279-290.
5. Danilevich V. N., Grishin E. V. A new approach to the isolation of genomic DNA from yeast and fungi: preparation of DNA-containing cell envelopes and their use in PCR //Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2002. – Т. 28. – С. 136-146.
6. Ling M., Merante F., Robinson B. H. A rapid and reliable DNA preparation method for screening a large number of yeast clones by polymerase chain reaction //Nucleic acids research. – 1995. – Т. 23. – №. 23. – С. 4924.

7. Amberg D. C., Burke D. J., Strathern J. N. Yeast DNA isolation: miniprep //Cold Spring Harbor Protocols. – 2006. – Т. 2006. – №. 1. – С. pdb. prot4148.

8. Karakousis A. et al. An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR //Journal of microbiological methods. – 2006. – Т. 65. – №. 1. – С. 38-48.

9. Kumar M., Mugunthan M. Evaluation of three DNA extraction methods from fungal cultures //medical journal armed forces india. – 2018. – Т. 74. – №. 4. – С. 333-336.

10. Xiong A. S. et al. A simple, rapid, high-fidelity and cost-effective PCR-based two-step DNA synthesis method for long gene sequences //Nucleic acids research. – 2004. – Т. 32. – №. 12. – С. e98-e98.

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ ПАТОГЕННЫХ ВИБРИОНОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В НАУЧНЫХ И ПРАКТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ

М.П. Погожова, А.В. Тюрина, А.О. Аноприенко, Ю.В. Сизова

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

STUDYING THE PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES OF PATHOGENIC VIBRIOS AND THEIR APPLICATION FOR SCIENTIFIC AND PRACTICAL PURPOSES

M.P. Pogozhova, A.V. Tyurina, A.O. Anoprienko, Yu.V. Sizova

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Researsh Institute, Rostov-on-Don, Russia

Введение

Род *Vibrio* представляет собой группу микроорганизмов, широко распространенных в водной среде обитания. Патогенные виды вибрионов могут вызывать заболевания у рыб, моллюсков, млекопитающих и человека. Из них наиболее патогенен вид *Vibrio cholerae,* вызывающий холеру. Другие виды *Vibrio*, например, *V. parahaemolyticus,* вызывают легкий и среднетяжелый гастроэнтерит у человека [1, 2]. В настоящее время существует проблема обнаружения штаммов, измененных в силу ряда причин, являющихся не чувствительными к противомикробным препаратам, что создает предпосылки для разработки новых или усовершенствования имеющихся препаратов. В специализированных учреждениях имеются стандартные наборы фагов, к которым чувствительны те или иные штаммы микроорганизмов, и разработаны схемы типирования [3], при этом только вирулентные бактериофаги могут быть использованы в составе лечебно-профилактических препаратов [4, 5]. В настоящее время на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора ведется работа по конструированию новых диагностических и профилактических препаратов бактериофагов. В связи с этим актуально изучение биологических свойств и генетических структур бактериофагов патогенных вибрионов. Цель исследования – создание коллекции бактериофагов патогенных вибрионов, содержащей сведения об основных характеристиках, необходимых для оценки перспектив их практического использования в качестве диагностических, профилактических препаратов, средств деконтаминации, а также в научно-исследовательской работе.

Материалы и методы

В исследование взяты бактериофаги *V. cholerae* (7 штаммов) и *V. parahaemolyticus* (4 штамма). Данные бактериофаги выделены из объектов окружающей среды, а также лизогенных штаммов и находятся в коллекции-депозитарии лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Изучение биологических свойств проводили общепринятыми методами [6]. Специфичность бактериофагов подтверждена на представителях близкородственных микроорганизмов семейств *Vibrionaceae* (50 штаммов), *Pseudomonadaceae* (20 штаммов), *Enterobacteriaceae* (40 штаммов). Морфологию фаговых частиц изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011.

Выделение ДНК фагов проводили в соответствии со стандартными методиками [7]. ДНК фагов секвенировали с помощью полногеномного секвенатора Miseq (Illumina). Биоинформационный анализ проводили общепринятыми методами, используя алгоритмы FastQC, Trimmomatic, Spades, BLASTN 2.2.29 (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov), PhageAnalyzer (http://antiplague.ru/phageanalyzer/), *BLASTX 2.12.0+* (http: //www.ncbi.nlm .nih.gov) [8-11]

Результаты и обсуждение

Морфологический анализ методом электронной микроскопии показал, что исследованные бактериофаги принадлежат к двум морфотипам [12] – подовирусы и миовирусы класса *Caudoviricetes*. Размеры геномов исследованных бактериофагов патогенных вибрионов колебались от 36 до 51 тысячи пар нуклеотидов, что соответствует норме для фагов класса *Caudoviricetes*. Семь нуклеотидных последовательностей бактериофагов *V.cholerae* (MG957431; OK169294, OK169295; MT066160.1; MT767883.1; MK575466.1; MH105773; MN379460-MN379463) и один *V.parahaemolyticus* (OK181169-OK181174) депонированы в международной базе данных GenBank (NCBI). Наряду с морфологической и генетической структурой фагов были изучены их биологические свойства.

Итогом исследования биологических свойств и генетических характеристик фагов было создание пополняемой базы данных «Коллекция бактериофагов для практического применения и научных целей» (исх. №6130 02/09 1984 2023 от 13.12.2023). На основании полученных генетических характеристик при помощи созданной нами компьютерной программы «PhageAnalyzer» (http://antiplague.ru/phageanalyzer/) определены типы исследованных бактериофагов патогенных вибрионов (вирулентный либо умеренный). Данный алгоритм позволяет установить наличие/отсутствие различных генов интеграз, токсинов, антибиотикорезистентности, эндолизинов и деполимераз, которые могут быть встроены в фаговый геном. Программа может быть использована, как для анализа данных секвенирования бактериофагов, полученных непосредственно исследователями, так и представленных в доступных базах нуклеотидных последовательностей.

Полученные данные явились основанием для формирования группы, в состав которой вошли вирулентные фаги перспективные в плане создания профилактического препарата против заболеваний, вызываемых патогенными вибрионами, а также усовершенствования схем фаготипирования. Например, разработан коктейль из холерных бактериофагов [13], обладающий высокой литической активностью в отношении хозяина, а также генетической характеристикой, отвечающей требованиям, предъявляемым к профилактическим препаратам. Изучен детально вирулентный вибриофаг 536 с высокой литической активностью в отношении *V.parahaemolyticus*, перспективный в качестве компонента для профилактического коктейля.

Умеренные фаги, взятые из зарегистрированной коллекции-депозитария, успешно используются для усовершенствования схем диагностики при мониторинге патогенных вибрионов из окружающей среды. Был разработан «Способ идентификации холерных вибрионов О1 серогруппы биоваров Classical и El Tor» с использованием умеренного бактериофага Rostov-6 с высокой литической активностью, который позволяет проводить ускоренную идентификацию микроорганизмов вида *V.cholerae* и дифференциацию их от микроорганизмов близкородственных видов и семейств (патент №2019141701 от 07.08.2020).

Сотрудниками ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора создан экспериментальный «Диагностический бактериофаг для идентификации *V. cholerae* О1 биовара эльтор жидкий» на основе фагов Rostov 13 и Rostov-1. В результате межучрежденческих испытаний установлено, что препарат имеет спектр литической активности, сопоставимый с бактериофагами эльтор из коммерческого препарата производства ФКУН Российский противочумный институт Роспотребнадзора «Микроб». Опытный препарат в цельном виде может быть использован в качестве прототипа активных фаговых модификантов при конструировании новых фаговых препаратов для совершенствования диагностики холерных вибрионов биовара Эль Тор [14].

Заключение

В результате проведенного исследования создана регулярно пополняемая база данных «Коллекция бактериофагов для практического применения и научных целей». Она включает основные характеристики фагов, является основой для разработки диагностических и профилактических препаратов. Из созданной коллекции отобраны вирулентные бактериофаги патогенных вибрионов, отвечающие требованиям, предъявляемым к профилактическим препаратам. Кроме того, выделены и изучены бактериофаги, перспективные в диагностическом плане, используемые при мониторинге объектов окружающей среды для обнаружения холерных вибрионов О1 серогруппы биоваров Classical и El Tor.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chowdhury F. et al. Diagnosis, management, and future control of cholera //Clinical Microbiology Reviews. – 2022. – Т. 35. – №. 3. – С. e00211-21.
2. Martinez-Urtaza J., Baker-Austin C. Vibrio parahaemolyticus //Trends in Microbiology. – 2020. – Т. 28. – №. 10. – С. 867-868.
3. Синягина Ю. В. и др. Современный обзор производства диагностических и лечебно-профилактических бактериофагов //Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2022. – С. 62.
4. Государственная фармакопея РФ, XIV изд., том 1 – 4 (2018); https://femb.ru/record/pharmacopea14
5. Каргина Т. М. и др. Разработка фармакопейных стандартов качества на лекарственные препараты-бактериофаги //БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2019. – Т. 19. – №. 4. – С. 233-241.
6. Adams M. H. Bacteriophages. – Interscience publishers, 1959.
7. Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual. Translation from English. – 1984.
8. Andrews S. et al. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. – 2010. Available at: http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc
9. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data //Bioinformatics. – 2014. – Т. 30. – №. 15. – С. 2114-2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
10. Bankevich A. et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing //Journal of computational biology. – 2012. – Т. 19. – №. 5. – С. 455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
11. Altschul S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs //Nucleic acids research. – 1997. – Т. 25. – №. 17. – С. 3389-3402. DOI:10.1093/nar/25.17.3389
12. Ackerman H.B. Bacteriophage taxonomy in 1987 // *Microbiol. Sci*. – 1987. – Т. 4 (7). – С. 214-218.
13. Аноприенко А.О. и др. Создание экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов //Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. ЮА Овчинникова. – 2020. – Т. 16. – №. 3. – С. 10-13.
14. Гумаюнова К.С. и др. Оценка результатов испытаний экспериментального фага для диагностики холеры эльтор //Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. ЮА Овчинникова. – 2021. – Т. 17. – №. 4. – С. 34-40.

Сведения об авторах

Погожова Марина Павловна – младший научный сотрудник лаборатории бактериофагов, pogojova_mp@antiplague.ru, 8-863-240-28-57; *https://orcid.org/0000-0001-9779-3577*

Тюрина Анна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории бактериофагов, turina_av@antiplague.ru; *https://orcid.org/0000-0002-9359-3997*

Аноприенко Анна Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории бактериофагов, anoprienko_ao@antiplague.ru; *https://orcid.org/0000-0001-8466-9315*

Сизова Юлия Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории бактериофагов sizova_yuv@antiplague.ru; *https://orcid.org/0000-0002-7831-7767*

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНЫХ ЭПИТОПОВ SARS-COV-2 СЛИТЫХ С MBP

Н.П. Румянцева, А.С. Черкашина, В.Г. Акимкин

***Аннотация**:* наработка белков коронавируса SARS-CoV-2 в традиционных системах экспрессии является сложной задачей, однако препараты белков вируса необходимы для научных и прикладных целей. Цель работы: получение рекомбинантных эпитопов SARS-CoV-2, слитых с мальтозо-связывающим белком (MBP) в клетках *E. coli*. На N-конце MBP-довесок содержит 8x-His метку, которая позволяет использовать метод аффинной хроматографии. Белки очищали методом осаждения сульфатом аммония в денатурирующих условиях с последующей ренатурацией. Полученные белки можно использовать для разработки тестов на обнаружение антител к вирусу SARS-CoV-2.

Введение

Первые случаи заболевания COVID-19 (коронавирусная инфекция 2019 года) были зафиксированы в 2019 году, число заболевших постоянно росло, и в марте 2020 года ВОЗ объявила о пандемии. В результате роста заболеваемости нагрузка на медицинские службы возросла, а экономическая деятельность была вынужденно приостановлена. Много сил и знаний было вложено в системы мониторинга эпидемиологической ситуации, разработку лекарств и вакцин против COVID-19. Несмотря на то, что ВОЗ в мае 2023 года объявила о завершении этапа чрезвычайной ситуации, меры реагирования на пандемию сохраняются и на сегодняшний день [1].

Характерными симптомами COVID-19 являются лихорадка, озноб, боли в горле. Симптомы могут возникнуть возникают через 5–6 дней после заражения, и длиться 1–14 дней [1]. Заболевание COVID-19 вызвано РНК-вирусом SARS-CoV-2, который относится к семейству *Coronaviridae* [2]. Размер генома вируса около 29 Кб. Вирион содержит нуклеокапсидный белок (N), сопряжённый с РНК-геномом вируса. На поверхности капсида расположены мембранный белок (M), белок шипа (S), и оболочечный белок (E). В геноме вируса закодирована информация о структурных белках (перечисленных выше E, M, N, S), неструктурных белках (ORF1 и ORF1ab), и вспомогательных белках (ORF3, ORF4a, ORF4b, ORF5, ORF8).

Белок шипа (S-белок) – гликопротеин, играет ключевую роль в процессе проникновения вируса в клетку хозяина. Структура шипа сформирована из трех субъединиц S-белка. Полипептидная цепь S-белка условно может быть поделена на две части S1 и S2 и содержит трансмембранный участок на С-конце. В локусах S1-субъединицы расположен рецептор-связывающий домен (RBD), который обеспечивает аффинное прикрепление к рецептору ангиотензин превращающего фермента 2 (ACE2), тем самым обеспечивая адсорбцию вируса в

клетку [3]. Гликопротеин является одним из ключевых белков-антигенов, вызывающих образование антител.

Функция нуклеопротеина (N-белок) – это стабилизация РНК-генома вируса внутри вириона. При патогенезе N-белок выступает в роли мишени для Т-клеточного иммунитета, что делает его перспективной целью для разработки новых вакцин против изменяющихся вариантов SARS-CoV-2 [4].

Получение очищенных препаратов белков SARS-CoV-2 необходимо для прикладных и научных целей. Разработаны методы экспрессии гетерологичных белков в клетках бактерий, дрожжей, млекопитающих и насекомых. Самым экономичным из этих способов является экспрессия белков в прокариотических клетках. Бактериальная система экспрессии в клетках *E.coli* является самой простой и экономичной, однако обладает и рядом недостатков: отсутствием посттрансляционной модификации, а также низкими уровнями экспрессии и растворимости получаемых гетерологичных белков [5]. Для повышения растворимости целевых белков их объединяют в одну молекулу с шаперонными белками, такими как мальтоза-связывающий белок (MBP), глутатион-S-трансфераза (GST) или убиквитин (UB) [6]. Универсального метода не существует, поэтому для каждого нового белка нужно оптимизировать и подбирать индивидуальные условия экспрессии (вспомогательные белки, штаммы, условия роста культуры, способы очистки белка и прочее).

Например, RBD-домен S-белка в условиях экспрессии в клетках бактерий образуется в нерастворимой форме, если белок не объединён с MBP. Растворимые формы удалось получить только при наличии MBP-метки в молекуле белка [7].

Мальтозосвязывающий белок (MBP) обладает молекулярной массой 42 кДа, способен связываться с мальтозой и мальтодекстринами. Объединение белков с MBP в одну молекулу повышает растворимость гетерологичных белков [8]. Присутствие MBP-метки в молекуле антигена не влияет на узнавание антителами [9], что позволяет не отщеплять метку и упрощает очистку антигенов для диагностических тестов.

Материалы и методы

Плазмидные вектора 8xHis-MBP-эпитоп-SARS-CoV-2

Шаблоном векторных конструкций была плазмида pET28b(+). Последовательность антигенов слитых с MBP клонировалась в вектор через рестрикцию с последующим лигированием по сайтам рестрикции *Nde*I и *Xho*I. Для этого праймеры конструировались таким образом, чтобы при амплификации целевого участка ДНК эпитопа на концах ДНК-молекулы образовались сайты рестрикции. Матрицами целевых эпитопов служили pDONR223-SARS-CoV-2_S (Addgene, #149329) и pDONR223-SARS-CoV-2_N (Addgene, #149330) для S- и N-белка

соответственно. В результате амплификации с вышеуказанными праймерами было получено 10 ДНК-последовательностей, кодирующих 7 групп эпитопов S-белка и 3 группы эпитопов N-белка.

Биосинтез белков SARS-CoV-2 с MBP

Бактерии штамма *E. coli* BL21 (DE3) трансформировали плазмидами из коллекции. Для каждого штамма-продуцента отбирали одну колонию, пересевали в 5 мл среды Лурия-Бертани (LB). В качестве селективного антибиотика применяли канамицин 50 мг/мл и хлорамфеникол 10 мг/мл. Культуры выращивали при температуре 37°C в 16-18 ч. на орбитальной шейкере при 200 об/мин. Выращенные культуры разбавляли в 100 раз до объёма 200 мл средой LB с добавлением антибиотиков для контроля чистоты культуры. Далее, бактерии выращивали при 37°C на орбитальном шейкере при 200 об/мин. до оптической плотности OD_{600} 0,8-1. Когда оптическая плотность достигла необходимых значений, колбы с культурами остужали до 10-15 °C, и затем в среду добавляли ИПТГ (изопропил-β-D-тиогалактопиранозид) до 1 мМ. С момента индукции культуры выращивали 24 ч. при 28°C на орбитальном шейкере при 120 об./мин.

Контроль наличия экспрессии проводили качественно с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Бактериальные осадки осаждали центрифугированием при 6000 g в течение 5 мин. Осадок клеток ресуспендировали в 200 мкл буфера 50 мМ Tris-HCl pH 8,0. Разрушение клеток выполняли ультразвуком. Параметры обработки ультразвуком: амплитуда 30%, время импульса 1 с в течении 20 мин. Буфер для образцов содержит 0,25 М Трис-HCl (pH 6,8), 10% SDS, 0,5% бромфеноловый синий, 50% глицерин. После смешивания с образцами пробы нагревали до 95°C в течение 5 мин. Белки были визуализированы в полиакриламидном геле и окрашены Кумасси.

Очистка белков SARS-CoV-2

Поскольку на N-конец белковых молекул добавлена 8xHis метка, то отделить целевые белки из биомассы возможно методом Ni-NTA-хроматографии. Белки из лизата клеток высаливали сульфатом аммония до 45% насыщения при понижении pH до изоэлектрической точки целевого белка в объёме 10 мл. Осаждённые белки ренатурировали в 20 мл буфера 50 мМ Tris-HCl pH 8,0. Ренатурат очищали методом хроматографии в условиях системы хроматографической колонки HiTrap $NiSO_4$ 5 мл. Элюция с носителя колонки проводилась градиентом имидазола от 0 до 500 мМ в условиях буфера 50 мМ Tris-HCl pH 8,0.

Результаты

В результате была создана коллекция плазмид: 7 плазмид для биосинтеза эпитопов S-белка и 3 плазмиды для эпитопов N-белка. Все сконструированные молекулы белков содержат метку 8xHis на N-конце и сайт узнавания энтерокиназой, который отделяет MBP-метку от эпитопа. Биосинтез белка контролируется лактозным опероном (рис.1).

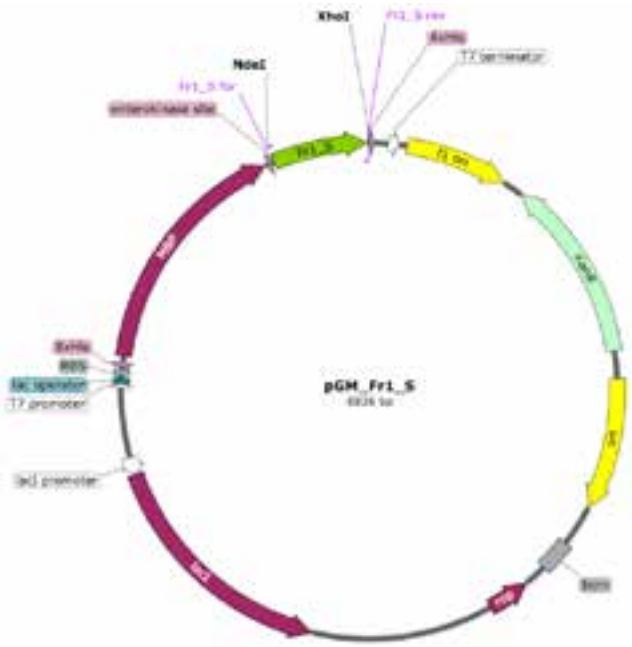


Рисунок 1. Схема экспрессионного вектора с кассетой 8xHis_MBP_эпитоп на примере MBP-S1

В работе были получены штаммы-продуценты целевых эпитопов SARS-CoV-2. После индукции лактозного оперона 1 мМ ИПТГ в образцахвсех штаммов-продуцентов были обнаружены целевые белки. Предварительными экспериментами было установлено, что первичные фракции белков, полученные сразу после разрушения, непригодны для аффинной хроматографии. Целевые белки не связывались с аффинной смолой колонки HiTrap-Ni. Восстановить аффинность с носителем колонки удалось только после высаливания белков из лизата клеток сульфатом аммония (45% от насыщения) с последующей ренатурацией белков. Однако, выход получаемых белков оставался низким. Увеличить выход целевых белков удалось при изменении pH буфера для высаливания до значений ниже изоэлектрической точки целевых белков (рис.2)

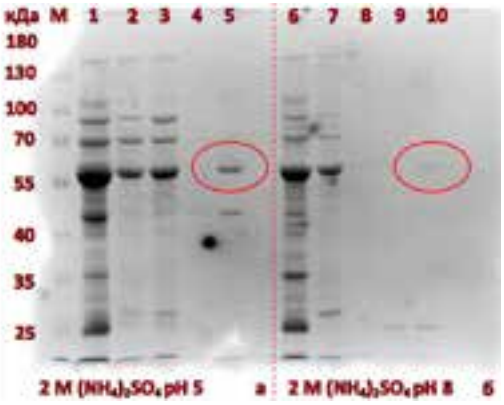


Рисунок 2. SDS-PADE по результатам аффинной хроматографии на примере MBP-S1 после высаливания сульфатом аммония. А) при pH=5: M – маркер молекулярных масс, 1 – исходная фракция до хроматографии, 2 – проскок, 3 – промывочный буфер, 4 – 20 мМ имидазол, 5 – элюция

500 мМ имидазол; б) при pH=8: 6 – исходная фракция до хроматографии, 7 – проскок, 8 – промывочный буфер, 9 – 20 мМ имидазол, 10 – элюция 500 мМ имидазол.

Использованный подход позволил получить в препаративных количествах панель белков-эпитопов (рис.3 а, б, в): выход целевых белков составил от 10,2 до 68 мг с 1 л культуральной среды. Расчётные значения изоэлектрической точки белков варьировались от 4,79 до 8,52 pH. Из 300 мг влажной биомассы были получены растворы белков-эпитопов в концентрациях от 0,17 до 0,67 мг/мл (см. табл. 1). Фракции белков хранятся в буфере Tris-HCl 50 мМ, 5 мМ ЭДТА, pH 8 в присутствии имидазола (не более 160 мМ) при температуре +4°C. Полученные препараты белков-эпитопов, их концентрации и чистота достаточны для проведения предварительных экспериментов на наличие аффинного связывания с антителами к SARS-CoV-2, обнаруженных в сыворотках крови заболевших COVID-19.

Таблица 1. Характеристики полученных белков-эпитопов SARS-CoV-2

№	Шифр белка	Концентрация, мг/мл	Выход белка с 1 л культуральной среды, мг	Изоэлектрическая точка, pH	Атомная масса, кДа
1	MBP-S1	0,19	15,2	6,21	59
2	MBP-S2	0,36	36	5,75	56
3	MBP-S3	0,69	55,2	6,11	62
4	MBP-S5	0,48	57,6	5,22	57
5	MBP-S6	0,35	28	5,48	57
6	MBP-S7	0,2	12	6,13	56
7	MBP-S8	0,68	68	4,79	64
8	MBP-N1	0,2	16	6,72	55
9	MBP-N2	0,17	10,2	8,52	57
10	MBP-N3	0,33	26,4	6,04	55

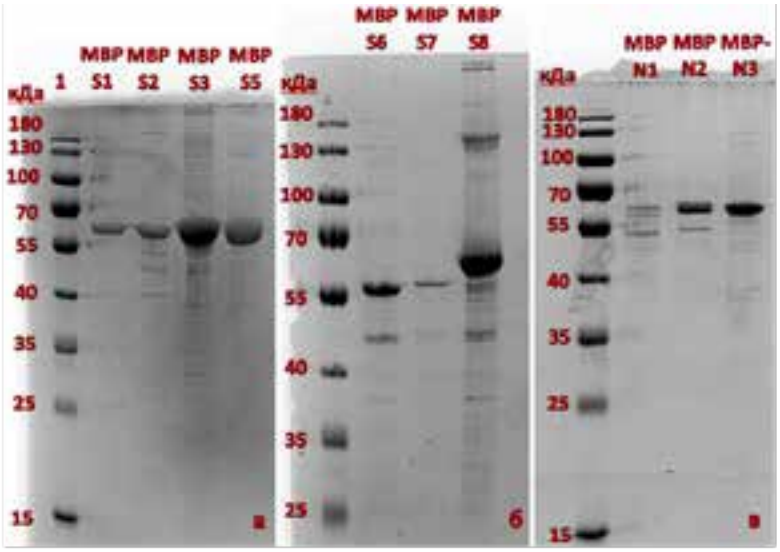


Рисунок 3 (а,б,в). Белковый форез (SDS-PAGE) полученных фракций панели

Обсуждение

При разработке рекомбинантных белков в этой работе использовали описанные в литературе линейные эпитопы [12-14], расположенные на S- и N-белке SARS-CoV-2. Поскольку нативные белки вируса SARS-CoV-2 подвергаются гликозилированию, то неизвестно, отразится ли отсутствие гликозида в структуре рекомбинантных антигенов на их связывании с антителами. По этой причине, выбор и сочетание в группы эпитопов проводили таким образом, чтобы минимизировать количество сайтов гликозилирования в составе молекул целевых белков.

После анализа публикаций [10, 11], где описаны схожие эксперименты, был сделан вывод, что создать растворимые рекомбинантные белки SARS-CoV-2 без вспомогательных белков в молекуле затруднительно. В структуру белковых конструкций был введён белок MBP. Применение вспомогательного белка позволило получить растворимую фракцию белка, но белки проявляли отсутствие связывания с никельсодержащим носителем хроматографической колонки. Аффинность с никельсодержащим носителем восстанавливалась после дополнительной ренатурации белка, осаждённого сульфатом аммония. Есть предположение, что в результате образования неправильной конформации белка, аффинные метки 8xHis были закрыты от радикалов носителя хроматографической колонки, поэтому белки проходили сквозь колонку не связываясь.

Образование белка в высоких концентрациях в клетка-продуцентах может приводить к образованию белковых агрегатов, что также способно затруднять упаковку белка и его дальнейшую очистку. Возможно, необходимо оптимизировать уровень экспрессии целевых белков в культуре штамма *E. coli* BL21 (DE3).

Заключение

Способность MPB повышать растворимость гетерологичных белков позволила получить растворимую фракцию рекомбинантных эпитопов после разрушения клеток-продуцентов. Осаждение 45% насыщением сульфата аммония при pH буфера ниже изоэлектрической точки белка позволило получить очищенные белки-эпитопы SARS-CoV-2. Рекомбинантные белки получены в растворимой форме. Полученные количества белков-эпитопов и их частота достаточны для проведения предварительных экспериментов на наличие аффинного связывания с антителами к SARS-CoV-2, обнаруженных в сыворотках крови, заболевших COVID-19.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения: официальный сайт. – URL: https://covid19.who.int/ (дата обращения: 25.01.2024). Текст: электронный.
2. Mohamadian M., Chiti H., Shoghli A., Biglari S., Parsamanesh N., Esmaeilzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis // The journal of gene medicine. – 2021. – Т. 23. – №. 2. – С. e3303.
3. Lei K. C., Zhang X. D. Conservation analysis of SARS-CoV-2 spike suggests complicated viral adaptation history from bat to human // Evolution, medicine, and public health. – 2020. – Т. 2020. – №. 1. – С. 290-303.
4. Matchett W. E., Joag V., Stolley J. M., Shepherd F. K., Quarnstrom C. F., Mickelson C. K., Masopust D. Cutting edge: nucleocapsid vaccine elicits spike-independent SARS-CoV-2 protective immunity // The Journal of Immunology. – 2021. – Т. 207. – №. 2. – С. 376-379.
5. Min L., Sun Q. Antibodies and vaccines target RBD of SARS-CoV-2 // Frontiers in Molecular Biosciences. – 2021. – Т. 8. – С. 671633.
6. Baeshen M. N., Al-Hejin A. M., Bora R. S., Ahmed M. M., Ramadan H. A., Saini K. S., Redwan E. M. Production of biopharmaceuticals in E. coli: current scenario and future perspectives. – 2015.
7. Matsunaga R., Tsumoto K. Addition of arginine hydrochloride and proline to the culture medium enhances recombinant protein expression in Brevibacillus choshinensis: The case of RBD of SARS-CoV-2 spike protein and its antibody // Protein Expression and Purification. – 2022. – Т. 194. – С. 106075.
8. Bach H., Mazor Y., Shaky S., Shoham-Lev A., Berdichevsky Y., Gutnick D. L., Benhar I. Escherichia coli maltose-binding protein as a molecular chaperone for recombinant intracellular cytoplasmic single-chain antibodies //Journal of molecular biology. – 2001. – Т. 312. – №. 1. – С. 79-93.
9. Salema V., Fernández L. Á. High yield purification of nanobodies from the periplasm of E. coli as fusions with the maltose binding protein //Protein expression and purification. – 2013. – Т. 91. – №. 1. – С. 42-48.
10. Kim W. S., Kim J. H., Lee J., Ka S. Y., Chae H. D., Jung I., Na J. H. Functional expression of the recombinant spike receptor binding domain of SARS-CoV-2 omicron in the periplasm of Escherichia coli // Bioengineering. – 2022. – Т. 9. – №. 11. – С. 670.
11. Márquez-Ipiña A. R., González-González E., Rodríguez-Sánchez I. P., Lara-Mayorga I. M., Mejía-Manzano L. A., Sánchez-Salazar M. G., Alvarez M. M. Serological test to determine exposure to SARS-CoV-2: ELISA based on the receptor-binding domain of the spike

protein (S-RBDN318-V510) expressed in Escherichia coli // Diagnostics. – 2021. – T. 11. – №. 2. – C. 271.

12. Saini S. K., Hersby D. S., Tamhane T., Povlsen H. R., Hernandez S. P. A., Nielsen M., Hadrup S. R. SARS-CoV-2 genome-wide T cell epitope mapping reveals immunodominance and substantial CD8+ T cell activation in COVID-19 patients //Science immunology. – 2021. – T. 6. – №. 58. – C. eabf7550.
13. Nelson R. W., Nelson R. W., Chen Y., Venezia O. L., Majerus R. M., Shin D. S. SARS-CoV-2 epitope–specific CD4+ memory T cell responses across COVID-19 disease severity and antibody durability //Science immunology. – 2022. – T. 7. – №. 73. – C. eabl9464.
14. Tilocca B., Soggiu A., Sanguinetti M., Babini G., De Maio F., Britti D., Roncada, P. Immunoinformatic analysis of the SARS-CoV-2 envelope protein as a strategy to assess cross-protection against COVID-19 //Microbes and infection. – 2020. – T. 22. – №. 4-5. – C. 182-187.

АССОЦИАЦИЯ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ОПУХОЛИ СО СТАТУСОМ ХРОМОСОМ 1, 3 И 8 У ПАЦИЕНТОВ С МЕЛАНОМОЙ РАДУЖКИ

С.В. Саакян[1,2], И.В. Свирина[1], А.Ю. Цыганков[1,2], В.И. Логинов[3]

[1]ФГБУ «НМИЦ глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России,105062, Москва, ул. Садовая–Черногрязская, 14/19

[2]ФГБОУ ВПО «МГМСУ имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1.

[3]ФГБУН «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Увеальная меланома (УМ) – злокачественная внутриглазная опухоль, которая локализуется в любой части увеального тракта от радужки до цилиарного тела и хориоидеи [1,2]. В 90 % случаев выявляют меланому хориоидеи, в 5-8% – меланому цилиарного тела и в 3-5% – меланому радужки [3,4]. УМ характеризуется агрессивным прогрессирующим течением с высоким риском метастазирования и летального исхода в течение 10 лет после лечения [5]. Для меланомы радужки характерно более благоприятное течение, что может быть связано с более ранней обращаемостью пациентов и выявлением опухоли на ранних стадиях заболевания [6].

Среди факторов неблагоприятного прогноза при УМ выделяют пожилой возраст больного, большие размеры опухоли, эпителиодноклеточный или смешанноклеточный тип, большое количество митозов, экстрабульбарный рост, распространение опухоли в цилиарное тело [7,8].

В последние годы большее значение приобретает изучение молекулярно-генетических особенностей опухоли. Наиболее распространенными хромосомными аберрациями при УМ являются: моносомия хромосомы 3 (как полная, так и частичная) и делеция всего короткого плеча хромосомы 1 и 8 [9]. Чаще данные аберрации встречаются при меланоме хориоидеи и цилиарного тела, но в литературе описаны случаи и при меланоме радужки [10,11].

Отсутствие исследований, направленных на изучение хромосомных аберраций у пациентов с меланомой радужки, а также их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками опухолей, в российской литературе и наличие единичных работ в зарубежной литературе, диктует необходимость изучения указанных взаимосвязей.

Цель настоящей работы – анализ частоты хромосомных аберраций в ткани опухоли у пациентов с меланомой радужки.

Материалы и методы. В опытную группу включено 110 пациентов с меланомой радужки и с распространением в цилиарное тело, пролеченных за период 2006-2023 год, которым проведено молекулярно-генетическое исследование. Группу сравнения составили 30 пациентов с УМ, пролеченных в 2012 году.

Всем пациентам проведено стандартное и специальное офтальмологическое обследование, включая ультразвуковое дуплексное сканирование и ультразвуковую биомикроскопию, конфокальную биомикроскопию, оптическую когерентную томографию, в том числе с ангиорежимом.

Все пациенты находились под динамическим наблюдением, срок наблюдения составлял от 1 до 17 (медиана 6,8) лет.

Пациенты разделены на исследуемые группы в зависимости от характера опухолевого очага.

В группу А вошло 48 пациентов с меланомой радужки. Средний возраст пациентов в группе составил 56,9±12,7 (30-73) лет. В данной группе преобладали женщины – 62,5% (n=30) по сравнению с мужчинами – 37,5% (n=18). У 8 пациентов (16,6%) отмечен отягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям различных локализаций.

Группу В составили 62 пациента с меланомой радужки с распространением в цилиарное тело. Средний возраст пациентов в группе составил 54,8±13,5 (27-79) лет. Женщины составили 56,5% (n=35), мужчины – 43,5% (n=27). Отягощенный семейный анамнез по онкологической патологии определен у 17,7% (n=11) больных.

Группу С составили 30 пациентов с УМ. Средний возраст пациентов в группе 51,3±12 (23 – 72) лет. Из них женщин - 60% (18), а мужчин – 40% (12). У 11 пациентов (36,7%) отмечен отягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям различных локализаций.

На основании проведенного молекулярно-генетического исследования и изучения численных и структурных изменений хромосом 3 группы в последующем были разделены на 4 подгруппы: пациенты с полной моносомией хромосомы 3 (полная М3), пациенты с частичной моносомией хромосомы 3 (частичная М3), пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 (1p), пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 8 (8p). Дополнительно выделяли подгруппы с сочетанием двух и более аберраций.

Всем пациентам в качестве лечения проведено органосохраняющее (иридэктомия, иридоциклсклерэктомия) или ликвидационное (энуклеация с пластикой культи) хирургическое вмешательство.

Образцы тканей. Морфологически диагноз увеальной меланомы был верифицирован во всех случаях. Гистологическое исследование проводилось на базе

НМИЦ ГБ им. Гельмгольца в отделе патологической анатомии и гистологии. Приготовление и окраску гистологических препаратов проводили по стандартной методике гематоксилином и эозином. После блокэксцизии и энуклеаций пораженного глаза биопсийный материал опухоли и хориоидеи (в случае энуклеации), а также образцы периферической крови (консервант: 0,5М раствор ЭДТА) сохраняли при -20 ^{0}С.

Геномную ДНК из образцов опухолей, хориоидеи и периферической крови, выделяли с помощью протеиназы К с последующей фенол-хлороформной экстракцией. Потерю гетерозиготности (ПГ) в хромосомных районах 1p36, 1p31.3, 8p12-p22, 3p25.3, 3p21.3, 3p14.2, 3q12, 3q26.3, 3q28 идентифицировали с использованием высокополиморфных маркеров *D1S243, D1S2145, D1S1635, D1S407, D1S3669, D1S438, D8S1715, D8S258, D3S1038, D3S1317, D3S1568, D3S966, D3S1300, D3S1234, D3S2459,16xTG_3q26.31, D3S3520, D3S2398.* Контролем служила ДНК лейкоцитов периферической крови и относительно интактная ткань из контралатеральной части глазного яблока (при энуклеации).

Статистический анализ проводили с применением точного критерия Фишера и его значимости. Комплексную оценку связей между исследуемыми группами проводили с использованием логистической регрессии, определяя отношение шансов (OR) с 95% доверительным интервалом с уровнем значимости, равным 0,05. Проведен расчет среднего арифметического значения (M), стандартного отклонения от среднего арифметического значения (m_1). Расчеты проводили в пакетах программ Microsoft Excel 2010, Statistica 10.1.

Результаты

Характеристика пациентов группы А:

- Полная М3 (А) подгруппа – пациенты с потерей одной копии хромосомы 3 (моносомией хромосомы 3) (n=14; 29,2%);
- Частичная М3 (А) подгруппа – пациенты с делециями в различных сегментах хромосомы 3 (n=12; 25%);
- 1p (А) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 (потерей гетерозиготности в хромосоме 1p) (n=33; 68,7%);
- 8p (А) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 8 (n=23; 47,9%).

Клинико-морфологическая характеристика данной группы представлена в таблице 1.

При анализе полученных данных выявлена статистически значимая (p=0,032) ассоциация частоты делеции хромосомы 1 среди женщин при сравнении подгрупп 1p (А) и 8p (А). Другие статистически значимые различия в подгруппах выявлены не были.

Отмечено наличие сочетания моносомии хромосомы 3 с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 и 8 в 25 % (n=12) – подгруппа М3+1р+8р (А), моносомии хромосомы 3 с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 в 18,8 % (n=9) – подгруппа М3+1р (А), и делеции всего короткого плеча хромосомы 1 и 8 в 16,7% случаев (n=8) – подгруппа 1р+8р (А).

Клинико-морфологическая характеристика данной группы представлена в таблице 2.

Веретеноклеточный тип опухоли встречался значимо чаще в подгруппе 1р+8р (А) по сравнению с подгруппой М3+1р (А) (p=0,049, $\chi 2$=5,13), а смешанноклеточный тип - в подгруппе М3+1 (А) по сравнению с подгруппой 1р+8р (А) (p=0,049, $\chi 2$=5,13).

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики с хромосомными аберрациями у пациентов с меланомой радужки

	Полная М3 (А) подгруппа (n=14)	Частичная М3 (А) подгруппа (n=12)	1р (А) подгруппа (n=33)	8р (А) подгруппа (n=23)
Возраст на момент операции (годы)	56,7±12,1	59,0±12,6	57,2±13,9	56,6±14,1
Мужчины Женщины	7 (50%) 7 (50%)	5 (41,7%) 7 (58,3%)	13 (39,4%) **20 (60,6%)***	16 (69,6%) 7 (30,4%)
Пигментированная	4 (28,6%)	5 (41,7%)	13 (39,4%)	10 (43,5%)
Слабопигментированная	5 (35,7%)	2 (16,6%)	12 (36,4%)	10 (43,5%)
Беспигментная	5 (35,7%)	5 (41,7%)	8 (24,2%)	3 (13,0%)
Видимые собственные сосуды	9 (64,3%)	7 (63,3%)	18 (54,5%)	12 (52%)
Отягощенный семейный анамнез по онкопатологии	2 (14,3%)	3 (25%)	5 (15,2%)	2 (8,7%)
Высота опухоли (мм)	1,3±0,4	1,2±0,5	1,4±0,8	1,5±0,9
Диаметр опухоли (мм)	3,2±0,6	3,3±1,4	3,4±1,3	3,4±1,0
Веретеноклеточный тип	8 (57,1%)	6 (50%)	20 (60,6%)	16 (69,6%)
Смешанноклеточный тип	4 (28,6%)	6 (50%)	13 (39,4%)	7 (30,4%)
Эпителиоидноклеточный тип	2 (14,3%)	-	-	-
Вторичная гипертензия	1 (7%)	3 (25%)	3 (9,1%)	3 (13%)
Анулярный рост	1 (7,1%)	1 (8,3%)	1 (3%)	1 (4,3%)
Экстрабульбарный рост	-	-	-	-

*отмеченные жирным шрифтом ассоциации статистически значимы (p<0,05)

Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики в сочетании с несколькими хромосомными аберрациями у пациентов с меланомой радужки

	М3+1р+8р (А) подгруппа (n=12)	М3+1р (А) подгруппа (n=9)	1р+8р (А) подгруппа (n=8)
Мужчины	5 (41,7%)	5 (55,6%)	2 (25%)

Женщины	7 (58,3%)	4 (44,4%)	6 (75%)
Пигментированная	3 (25%)	3 (33,4%)	4 (50%)
Слабопигментированная	7 (58,3%)	2 (22,2%)	3 (37,5%)
Беспигментная	2 (16,7%)	4 (44,4%)	1 (12,5%)
Видимые собственные сосуды	7 (58,3%)	6 (66,7%)	4 (50%)
Отягощенный семейный анамнез по онкопатологии	1 (8,3%)	3 (33,3%)	-
Веретеноклеточный тип	7 (58,3%)	3 (44,4%)	**7 (87,5%)***
Смешанноклеточный тип	5 (41,7%)	**6 (55,6%)***	1 (12,5%)
Эпителиоидноклеточный тип	-	-	-
Вторичная гипертензия	2 (16,7%)	1 (11,1%)	-
Анулярный рост	-	1 (11,1%)	-
Экстрабульбарный рост	-	-	-

*отмеченные жирным шрифтом ассоциации статистически значимы ($p<0,05$)

Характеристика пациентов группы В:

- Полная М3 (В) подгруппа – пациенты с потерей одной копии хромосомы 3 (моносомией хромосомы 3) (n=14; 22,6%);
- Частичная М3 (В) подгруппа – пациенты с делециями в различных сегментах хромосомы 3 (n=31; 50%);
- 1p (В) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 (потерей гетерозиготности в хромосоме 1p) (n=48; 77,4%);
- 8p (В) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 8 (n=32; 51,6%).

Клинико-морфологическая характеристика данной группы представлена в таблице 3.

При анализе полученных данных статистически значимых ассоциаций между клинико-морфологическими признаками в подгруппах не выявлено.

Отмечено наличие сочетания моносомии хромосомы 3 с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 и 8 в 33,9 % (n=21) – подгруппа М3+1p+8p (В), моносомии хромосомы 3 с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 в 22,6 % (n=14) – подгруппа М3+1p (В), моносомии хромосомы 3 с делецией всего короткого плеча хромосомы 8 в 8,1 % (n=5) – подгруппа М3+8p (В) и делеции всего короткого плеча хромосомы 1 и 8 в 8,1% случаев (n=5) – подгруппа 1p+8p (В).

Клинико-морфологическая характеристика данной группы представлена в таблице 4.

Веретеноклеточный тип опухоли в подгруппе М3+1p (В) определяли несколько чаще по сравнению с группой М3+1p+8p (В), однако различия были значимы на уровне тенденции ($p=0,084$, $\chi2=3.88$).

Таблица 3. Клинико-морфологические характеристики с хромосомными аберрациями у пациентов с меланомой радужки с распространением в цилиарное тело.

	Полная М3 (В) подгруппа (n=14)	Частичная М3 (В) подгруппа (n=31)	1p (В) подгруппа (n=48)	8p (В) подгруппа (n=32)
Возраст на момент операции (годы)	57,3±12,5	55,3±11,4	54,9±13,9	54,2±13,0
Мужчины Женщины	7 (50%) 7 (50%)	11 (35,5%) 20 (64,5%)	22 (45,8%) 26 (54,2%)	13 (40,6%) 19 (59,4%)
Пигментированная	11 (78,6%)	25 (80,7%)	37 (77%)	26 (81,2%)
Слабопигментированная	1 (7,1%)	5 (16,1%)	7 (14,6%)	4 (12,4%)
Беспигментная	2 (14,3%)	1 (3,2%)	4 (8,4%)	2 (6,3%)
Видимые собственные сосуды	4 (28,6%)	8 (25,8%)	15 (31,2%)	10 (31,2%)
Отягощенный семейный анамнез по онкопатологии	3 (21,4%)	5 (16,1%)	7 (14,6%)	4 (12,5%)
Высота опухоли (мм)	2,5±1,3	2,2±1,2	2,0±1,1	2,5±1,2
Диаметр опухоли (мм)	6,3±2,3	4,5±2,4	4,7±2,0	5,4±2,6
Веретеноклеточный тип	8 (57,1%)	13 (42%)	25 (52,1%)	16 (50%)
Смешанноклеточный тип	4 (28,6%)	9 (29%)	13 (27%)	8 (25%)
Эпителиоидноклеточный тип	2 (14,3%)	9 (29%)	10 (20,9%)	8 (25%)
Вторичная гипертензия	5 (35,7%)	10 (32,2%)	16 (33,3%)	9 (28,1%)
Анулярный рост	5 (35,7%)	13 (42%)	17 (35,4%)	15 (46,9%)
Экстрабульбарный рост	-	1 (3,2%)	1 (2%)	1 (3,1%)

Таблица 4. Клинико-морфологические характеристики с несколькими хромосомными аберрациями у пациентов с меланомой радужки с распространением в цилиарное тело.

	М3+1p+8p (В) подгруппа (n=21)	М3+8p (В) подгруппа (n=5)	М3+1p (В) подгруппа (n=14)	1p+8p (В). подгруппа (n=5)
Мужчины Женщины	7 (33,3%) 14 (66,7%)	2 (40%) 3 (60%)	8 (57,1%) 6 (42,9%)	2 (40%) 3 (60%)
Пигментированная	18 (85,7%)	4 (80%)	11 (78,6%)	4 (80%)
Слабопигментированная	3 (14,3%)	-	2 (14,3%)	-
Беспигментная	-	1 (20%)	1 (7,1%)	1 (20%)
Видимые собственные сосуды	4 (19%)	3 (60%)	4 (28,6%)	2 (40%)
Отягощенный семейный анамнез по онкопатологии	3 (14,3%)	1 (20%)	2 (14,3%)	-
Веретеноклеточный тип	9 (42,8%)	**5 (100%)***	7 (50%)	2 (40%)
Смешанноклеточный тип	6 (28,6%)	-	4 (28,6%)	1 (20%)
Эпителиодноклеточный тип	6 (28,6%)	-	3 (21,4%)	2 (40%)
Вторичная гипертензия	7 (33,3%)	-	6 (42,9%)	1 (20%)
Анулярный рост	8 (38,1%)	2 (40%)	5 (35,7%)	4 (80%)
Экстрабульбарный рост	1 (4,7%)	-	-	-

*отмеченные жирным шрифтом ассоциации значимы на уровне тенденции (0,05 p <0,1)

Характеристика пациентов группы С:

- Полная М3 (С) подгруппа – пациенты с потерей одной копии хромосомы 3 (моносомией хромосомы 3) (n=5; 16,7%);
- Частичная М3 (С) подгруппа – пациенты с делециями в различных сегментах хромосомы 3 (n=20; 66,7%);
- 1p (С) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 1 (потерей гетерозиготности в хромосоме 1p) (n=9; 30%);
- 8p (С) подгруппа – пациенты с делецией всего короткого плеча хромосомы 8 (n=6; 20%).

В 13,5% случаев (n=14) определяли наличие у одного пациента как моносомии 3, так и делеции в коротком плече хромосомы 1.

В подгруппе полной М3 (С) значимо чаще определяли распространение опухоли в цилиарное тело по сравнению с другими подгруппами (p=0,035). В подгруппе частичной М3 (С) выявлена значимая ассоциация частоты частичной моносомии хромосомы 3 с прогностически наиболее неблагоприятными типами опухоли, смешанноклеточным и эпителиоидноклеточным (p=0,014 и 0,042, соответственно). Также в подгруппе частичной М3 (С) выявлена значимая ассоциация (p=0,044) с высокой акустической плотностью у вершины опухоли, что принято считать относительно неблагоприятным прогностическим фактором. В опытной группе (n=110) делеции хромосом 1p и 8 встречались значимо чаще по сравнению с группой сравнения (73,6% и 50% по сравнению с 30% и 20%, соответственно; $p<0,05$ во всех случаях), что подтверждает более благоприятный характер меланомы радужки по сравнению с меланомой хориоидеи.

Обсуждение. Меланома радужки — наименее распространенный тип увеальной меланомы, составляющий всего 3-5% случаев [12]. Уровень смертности при меланоме радужки колеблется от 0 до 11% в зависимости от наличия метастазов, гистологического типа опухоли, распространения в цилиарное тело [13]. Прогноз у пациентов с меланомой радужки более благоприятный, чем при меланоме хориоидеи и цилиарного тела, однако причины до конца не изучены. В литературе имеются единичные работы, посвященные ассоциации клинико-морфологических параметров с хромосомными аберрациями при меланоме радужке, при этом данные работы выполнены на небольшой выборке пациентов с коротким периодом наблюдения.

В нашей работе проведен анализ клинико-морфологических и молекулярно-генетических признаков у 110 пациентов с меланомой радужки. Нами оценены ассоциации между хромосомными аберрациями (хромосома 1,3 и 8), возрастом пациентов и такими клиническими параметрами опухоли, как локализация, размеры опухоли, степени

пигментации, видимых собственных сосудов, вторичной гипертензии, экстрабульбарного роста, а также с гистологическим типом опухоли и наличия отягощенного семейного анамнеза в отношении онкологической патологии у пациента.

Имеется небольшое количество работ, посвященных хромосомным аберрациям при меланоме радужки. В исследовании Mensink H.W. и соавт. [14] у 9 из 20 пациентов с меланомой радужки наблюдалась частичная моносомия хромосомы 3, дупликация всего короткого плеча хромосомы 8 – у 7 пациентов. В данном исследовании 3 человека умерло от метастатической болезни, 1 пациент с метастазами в печень на момент исследования оставался жив. Плохой прогноз был связан с диффузным ростом меланомы радужки, с вовлечением в процесс цилиарного тела и наличием моносомии хромосомы 3. В нашей работе в группе меланом радужки частота встречаемости полной и частичной моносомии хромосомы 3 составила 54,2 %, делеции короткого плеча хромосомы 1 – 68,8% и делеция длинного плеча хромосомы 8 – 47,9%. В группе с распространением опухоли в цилиарное тело частота встречаемости полной и частичной моносомии хромосомы 3 составила 62 %, делеции короткого плеча хромосомы 1 – 77,4%, делеции длинного плеча хромосомы 8 – 51,6%. Один больной с наличием всех трех исследуемых аберраций умер через 5 лет после хирургического вмешательства.

В работе Krishna Y. и соавт. [15] проанализировано 20 случаев пациентов с меланомой радужки за период 1993-2015 год. Авторами показано, что дисомия хромосомы 3 выявлена у 16 пациентов, а полная моносомия хромосомы 3 - у 4 человек. Дупликацию всего короткого плеча хромосомы 8 определяли в 6% случаев. Один пациент с меланомой радужки умер от метастатической болезни, у данного пациента наблюдалась дисомия хромосомы 3 с дупликацией всего короткого плеча хромосомы 8. Все остальные пациенты были живы без признаков метастазов. В указанной работе не проводили ассоциацию между клинико-морфологическими характеристиками и хромосомными аберрациями. В нашем исследовании у пациентов женского пола с меланомой радужки делецию короткого плеча хромосомы 1 определяли значимо чаще ($p=0,032$) по сравнению с делецией длинного плеча хромосомы 8. В группе больных с меланомой радужки с распространением в цилиарное тело значимо чаще определяли веретеноклеточный тип опухоли при наличии делеции короткого плеча хромосомы 1 и 8 ($p=0,049$, $\chi2=5,13$), а смешанноклеточный тип - при наличии моносомии хромосомы 3 и делеции короткого плеча хромосомы 1 ($p=0,049$, $\chi2=5,13$).

В исследовании Shields C.L. и соавт. [16] проведена тонкоигольная аспирационная биопсия у 17 пациентов с меланомой радужки. Частичную или полную моносомию 3 хромосомы выявили в 71% случаев, что коррелировало с пожилым возрастом пациентов.

При смешанноклеточном и эпителиоидноклеточном типе опухоли гораздо чаще наблюдалась моносомия 3 хромосомы. Других статистически значимых ассоциаций в данном исследовании не выявлено. В нашем исследовании общая частота полной и частичной моносомии хромосомы 3 в опытной группе (110 пациентов) составила 64,5%, что сопоставимо с работой [16].

Заключение. Таким образом, в настоящем исследовании впервые показано, что при меланоме радужки в 2,5 раза чаще определяют хромосомные аберрации в виде делеции короткого плеча хромосомы 1 и 8 по сравнению с меланомой хориоидеи. Показано, что при меланоме радужки веретеноклеточный тип опухоли значимо чаще выявляли у пациентов с сочетанием делеции короткого плеча хромосомы 1 и 8 ($p=0,049$, $\chi2=5,13$), а смешанноклеточный тип - при моносомии хромосомы 3 и делеции короткого плеча хромосомы 1 ($p=0,049$, $\chi2=5,13$). У пациентов женского пола делецию короткого плеча хромосомы 1 выявляли значимо чаще ($p=0,032$) по сравнению с делецией длинного плеча хромосомы 8. Выявленные особенности подтверждают более благоприятный характер опухолевого процесса при меланомах радужки по сравнению с меланомами хориоидеи. Анализ хромосомных аберраций необходимо выполнять у пациентов после блокэксцизии опухоли или энуклеации при анулярном или диффузном росте.

ЛИТЕРАТУРА

1) Гришина, Е. Е. Эпидемиология увеальной меланомы в г. Москве / Е. Е. Гришина, М. Ю. Лернер, Э. Г. Гемджян // Альманах клинической медицины. – 2017. – Т. 45, № 4. – С. 321-325.

2) Radiotherapeutic and surgical management of iris melanoma: A review / M. Popovic, I.I.K. Ahmed, J. DiGiovanni [et al.] // Surv Ophthalmol. – 2017. – Vol.62, №3. – P. 302-311.

3) Uveal melanoma / M.J. Jager, C.L. Shields, C.M. Cebulla [et al.] // Nat Rev Dis Primers. – 2020. – Vol.6, № 1. – P.1-25.

4) Kaliki S. / Uveal melanoma: Relatively rare but deadly cancer / S. Kaliki, C.L. Shields // Eye (Lond). – 2017. – Vol.31. – P. 241–257.

5) Singh M. / Uveal Melanoma: A review of the literature // M. Singh, P. Durairaj, J. Yeung. // Oncol Ther. – 2018. – Vol.6, № 1. – P.87–104.

6) Uveal melanoma-associated survival in Scotland / A. Jamison, L.A. Bhatti, M.M. Sobti [et al.] // Eye (London). – 2019. – Vol.33. – P. 1699–1706.

7) Амирян, А. Г. Факторы прогноза увеальной меланомы / А. Г. Амирян, С. В. Саакян // Вестник офтальмологии. – 2015. – Т. 131, №1. – С. 90-95.

8) Multicenter external validation of the liverpool uveal melanoma prognosticator online: An OOG collaborative study / A. C. Rola, A. Taktak, A. Eleuteri [et al.] // Cancers. – 2020. – Vol. 12, No. 2. – P. 477.

9) Kaliki S. Uveal melanoma: estimating prognosis / S. Kaliki, C. L. Shields, J. A. Shields // Indian J Ophthalmol. – 2015. – Vol. 63, № 2. – P. 93-102.

10) Выживаемость при увеальной меланоме: роль молекулярно – генетических факторов / С. В. Саакян, А. Ю. Цыганков, А. Г. Амирян [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2016. – Т. 132, № 1. – С. 3-9.

11) Genetic findings in treatment-naive and proton-beam-radiated iris melanomas / Y. Krishna, H. Kalirai, S. Thornton [et al.] // Br J Ophthalmol. – 2016. – Vol. 100, № 7. – P. 1012-1016.

12) Iris melanoma: Prognostication for metastasis / A. Melendez-Moreno, Y.S. Yeşiltaş, J. Wrenn [et al.] // Surv Ophthalmol. – 2023. – Vol. 68, № 5. – P. 957-963.

13) Uveal melanoma: epidemiology, etiology, and treatment of primary disease / B.A. Krantz, N.Dave, K.M. Komatsubara [et al.] // Clin Ophthalmol. – 2017. – Vol. 11. – P. 279–89.

14) Genetics of uveal melanoma / H. Kalirai, S. Thornton, A. I. Tsygankov [et al.] // Intraocular Tumors, 2019. – P. 81-91.

15) Chromosomal aberrations in iris melanomas / H.W. Mensink, J. Vaarwater, R.J. de Keizer [et al.] // Br J Ophthalmol. – 2011. – Vol. 95, № 3. – P. 424-8.

16) Genetic findings in treatment-naive and proton-beam-radiated iris melanomas / Y. Krishna, H. Kalirai, S. Thornton [et al.] // Br J Ophthalmol. – 2016. – Vol.100, № 7. – P.1012-6.

17) Cytogenetic testing of iris melanoma using fine needle aspiration biopsy in 17 patients / C.L. Shields, A. Ramasubramanian, A. Ganguly [et al.] // Retina. – 2011. – Vol.31, № 3. – P. 574-80.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПАТОГЕНЕЗА SCN1A-АССОЦИИРОВАННОЙ ЭПИЛЕПСИИ

П.А. Спарбер

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Патогенные варианты нуклеотидной последовательности (ВНП) в гене *SCN1A,* кодирующем альфа-субъединицу потенциал-зависимого натриевого канала Nav1.1, являются одной из самых частых генетически обусловленных причин развития эпилепсии и заболеваний развития нервной системы у детей [Beltran-Corbellini A. et al., 2022, Symonds J. D. et al., 2019]. На сегодняшний день в базах данных, содержащих информацию о патогенности вариантов нуклеотидной последовательности, таких как ClinVar, Human Gene Mutation Database (HGMD) и Leiden Open Variation Database (LOVD), для гена *SCN1A* суммарно описано более пяти тысяч ВНП, ассоциированных с различными по тяжести эпилептическими фенотипами – от доброкачественных фебрильных судорог (ФС) до крайне тяжелого фенотипа синдрома Драве (СД).

Наиболее малочисленной и малоизученной группой в мутационном спектре гена *SCN1A* являются ВНП, аннотированные как влияющие на прохождение сплайсинга, хотя известно, что ВНП, нарушающие прохождение сплайсинга, вносят значительный вклад в развитие моногенных заболеваний у человека [Lord J. et al., 2021]. По различным оценкам на долю ВНП, нарушающих прохождение сплайсинга, приходится от 15-60% всех патогенных вариантов в структуре наследственной патологии [Krawczak M. et al., 1992, Lopez-Bigas N. et al., 2005]. Однако, в публичных базах данных лишь около 10% всех описанных ВНП в гене *SCN1A* аннотированы как варианты, влияющие на прохождение сплайсинга. Это свидетельствует о значительной недопредставленности данных вариантов, которая обусловлена сложностью в их выявлении и интерпретации. Современные биоинформатические алгоритмы позволяют предсказать возможное влияние ВНП на прохождение сплайсинга, однако для подтверждения данного влияния и установления патогенности варианта и его точного молекулярного механизма необходимо проведение дополнительных подтверждающих функциональных исследований. Более того, на сегодняшний день с помощью данных алгоритмов невозможно предсказать точный молекулярный механизм нарушения сплайсинга, что имеет принципиальное значение как для установления гено-фенотипических корреляций, так и для разработки этиотропных методов лечения.

Плазмидные вектора, экспрессирующие минигены, уже несколько десятков лет применяются при изучении молекулярных основ сплайсинга наряду с функциональными

исследованиями влияния ВНП на прохождение сплайсинга в медицинской генетике. Существенной проблемой, затрудняющей рутинное применение данного подхода, является некорректное распознавание клонированного экзона, когда при тестировании плазмидного вектора с последовательностью дикого типа наблюдается частичный или полный пропуск экзона в составе мРНК. Несмотря на длительное применение данной методики, в профессиональной литературе практически отсутствуют данные о подходах, позволяющих решить проблему некорректного распознавания экзонов в составе плазмиды, что затрудняет широкое применение этой методики в клинической практике.

Псевдоэкзоны (poison exons, ПЭ) представляют собой альтернативно сплайсирующиеся экзоны, включение которых в состав пре-мРНК приводит к сдвигу рамки считывания или формированию преждевременного стоп-кодона (ПСК) с последующей активацией механизма нонсенс-опосредованной деградации мРНК (NMD) [Carvill G. L. et al., 2020, Ni J. Z. et al., 2007]. Данные альтернативные экзоны являются высоко консервативными элементами генома, принимающими важное участие в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов в различных организмах, на разных этапах онтогенеза и в крайне тканеспецифичной манере [Titus M. B. et al., 2021]. Однако, их роль и участие в развитии моногенных заболеваний в целом и *SCN1A*-ассоциированной эпилепсии в частности остается малоизученной.

1. Разработка системы плазмидных векторов, экспрессирующих мини/миди/максигены *SCN1A*

На первом этапе создания системы созданы 6 стандартных минигенов, содержащих отдельно экзоны 4, 7, 14, 19, 24 и 25 с минимум 200 нуклеотидами интронов с каждой стороны. Для остальных белок-кодирующих экзонов проведено клонирование в 10 плазмидных векторов попарно вместе с полной последовательностью интрона между ними (экзоны 5+6, 8+9, 10+11, 12+13, 15+16, 17+18, 20+21, 22+23, 26+27 и 28+29). Данные более крупные конструкции, содержащие по 2 экзона названы «мидигенами».

1.1 Тестирование плазмидных векторов, экспрессирующие мини/мидигены *SCN1A*

Для тестирования 16 созданных плазмидных векторов, покрывающих все белок-кодирующие экзоны гена *SCN1A*, все конструкции, содержащие экзоны и фланкирующие их интронные последовательности, со вставкой, соответствующей дикому типу, трансфицировали в клеточную линию HEK293T. В результате тестирования 16 плазмид с последовательностью дикого типа показано, что лишь для минигенов, содержащих экзоны 4, 7, 14 и 25, а также для мидигенов содержащие экзоны 20+21, 22+23 и 28+29, получены ПЦР продукты с полным включением клонированных экзонов и, следовательно, получены конструкции, экспрессирующие мини/мидигены, сплайсинг которых соответствует сплайсингу референсной изоформы. В случае остальных 9 конструкций (экзоны 5+6, 8+9, 10+11, 12+13, 15+16, 17+18, 19,

24 и 26+27) в результате тестирования плазмид с последовательностью дикого типа выявлены ПЦР продукты со значительным или даже полным пропуском одного или обоих клонированных экзонов.

1.2 Применение подходов по улучшению распознавания экзонов гена *SCN1A* в составе минигенов

Учитывая, что после тестирования конструкций, содержащих экзоны гена *SCN1A* с последовательностью дикого типа, выявлено некорректное распознавание экзонов более чем в половине случаев, принято решение о модификации плазмид для улучшения распознавания экзонов и получение рабочих конструкций. Для получения плазмидных конструкций с корректным распознаванием оставшихся 16 экзонов гена *SCN1A* в работе использовали несколько подходов: увеличение геномного окружения, уменьшение силы промотора плазмиды, модификация плазмидного интрона для U12 интронов и модификация цис-регуляторных элементов в экзонах. Использование подхода по **увеличению геномного окружения** позволило добиться корректного распознавания 6 экзонов гена *SCN1A* (экзоны 8,9,11,12,13,16). Использование подхода по **снижению силы плазмидного промотора** привело к успешному распознаванию экзонов 5,6,17 и 18 гена *SCN1A*. Данный подход в литературе не описан и применен в данной работе впервые. В результате **модификации плазмидного интрона** удалось добиться корректного распознавания для экзонов 6 и 26 гена *SCN1A*. Данный подход применен в данной работе впервые**.** В результате **модификация цис-регуляторных элементов сплайсинга в экзонах** удалось добиться корректного распознавания для экзонов 19 и 24 гена *SCN1A*.

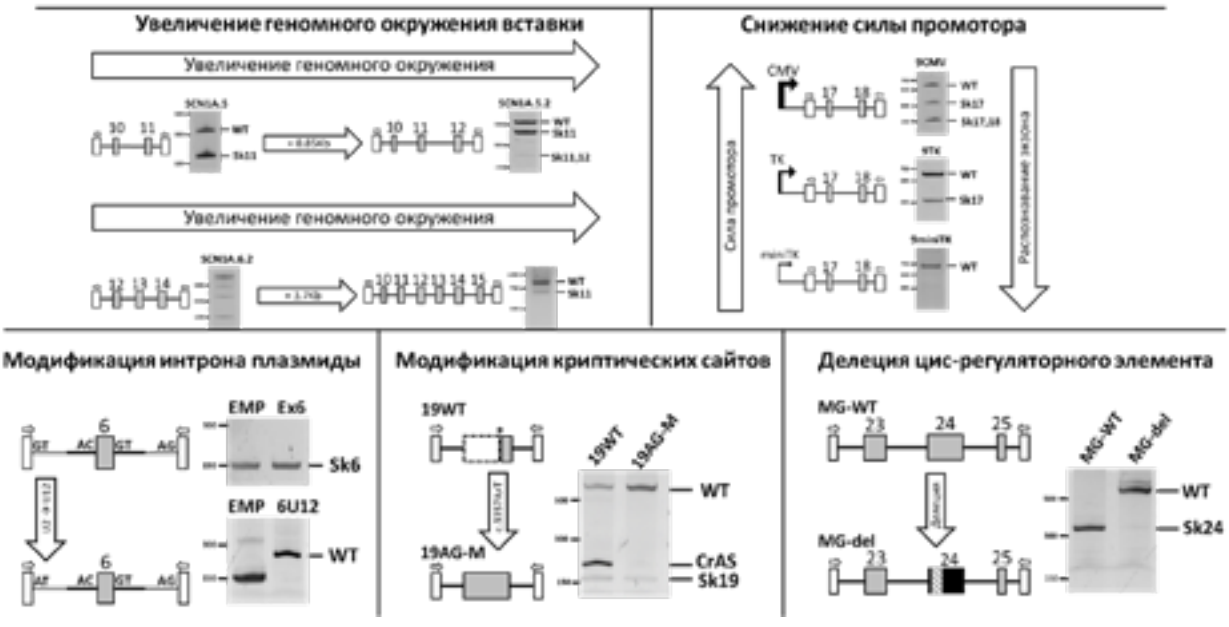


Рисунок 1. Подходы по улучшению распознавания экзонов гена *SCN1A* в составе плазмид, экспрессирующих минигены

1.3 Итоги разработки системы плазмидных векторов, экспрессирующих мини/миди/максигены *SCN1A*

В ходе выполнения работы по разработки системы плазмидных векторов, экспрессирующих мини/миди/максигены *SCN1A*, с применением различных подходов получено 18 частично перекрывающихся конструкций, содержащие все 26 белок-кодирующих экзонов гена *SCN1A*. С использованием подходов, описанных выше, большая часть из которых применена в данной работе впервые, удалось добиться корректного распознавания всех экзонов, что позволяет использовать данные конструкции для проведения функционального анализа ВНП на предмет влияния на прохождение сплайсинга (рисунок 2). Данные подходы потенциально могут быть универсальными и использованы для улучшения распознавания экзонов в составе минигена для любого гена.

Разработанная система покрывает 100% кодирующей области гена *SCN1A* и 51,5% всей последовательности гена (88661 п.н.) и может быть использована не только для исследования влияния на прохождение сплайсинга ВНП, локализованных у границ экзонов, но также для анализа глубоко-интронных вариантов, так как многие интроны гена *SCN1A* клонированы целиком.

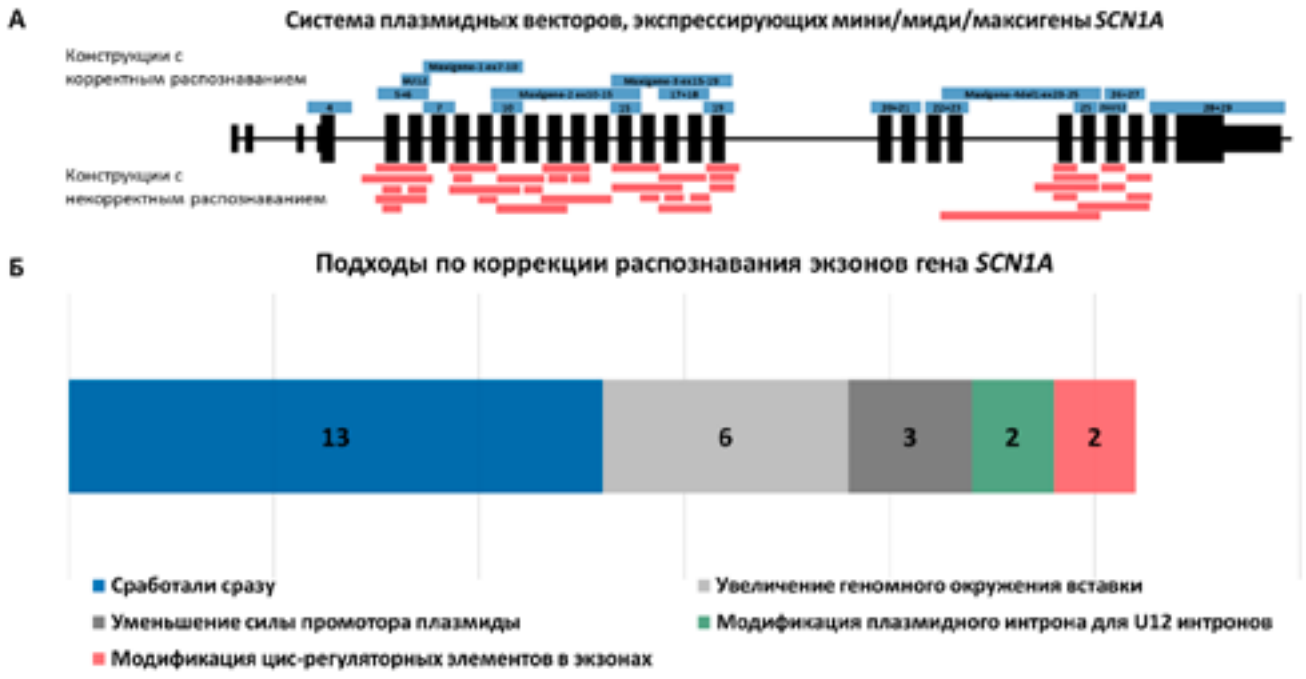


Рисунок 2. Итоги разработки системы плазмид, экспрессирующих мини/миди/максигены *SCN1A*. А – схема гена *SCN1A* согласно базе данных RefSeq. Экзоны указаны в виде прямоугольников, интроны в виде горизонтальной линии между ними. Над схемой указаны вставки рабочих конструкций. Ниже схемы указаны вставки плазмид, тестирование которых продемонстрировало

значительных уровень пропуска клонированного экзона/экзонов. Б – Анализ различных подходов по улучшению распознавания экзонов с указанием количества экзонов, распознавание которых улучшено с использованием каждого подхода

2. Исследование влияния интронных вариантов нуклеотидной последовательности на прохождение сплайсинга в гене *SCN1A*

С помощью разработанной в ходе данной работы системы проведен функциональный анализ, на предмет нарушения сплайсинга 95 вариантов нуклеотидной последовательности: 68 ранее описанных интронных варинтов, 21 ранее описанных экзонных вариантов различных типов (16 миссенс вариантов, три синонимичных варианта, один нонсенс вариант и одна делеция без сдвига рамки считывания) и 6 ранее неописанных вариантов, выявленных у российских пациентов с эпилепсией. Функциональный анализ 68 интронных ВНП установил нарушение прохождения сплайсинга для 56 вариантов. Интересно отметить, что для 12 интронных ВНП не установлено влияние на прохождение сплайсинга (17,6%) несмотря на то, что все данные ВНП описаны в литературе как патогенные и вероятно-патогенные.

Проведенный анализ установил влияния на прохождение сплайсинга для 15 из 21 исследуемых ВНП (11 миссенс вариантов, 3 синонимичных и один нонсенс вариант). Среди 6 ранее неописанных вариантов, влияния на сплайсинг было установлено для 5/6 исследуемых замен (рисунок 3)

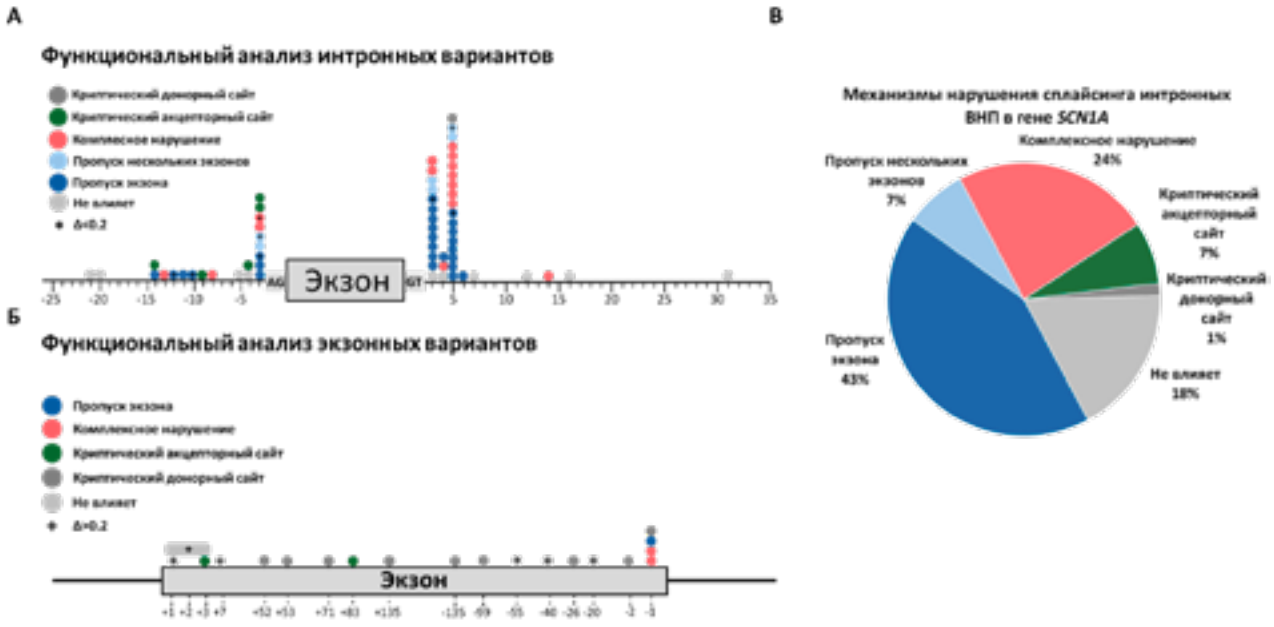


Рисунок 3. Результаты функционального анализа вариантов нуклеотидной последовательности в гене *SCN1A*. А - расположение исследуемых интронных ВНП относительно границ экзона. Каждый круг представляет собой один ВНП. Разными цветами отмечены разные механизмы

нарушения прохождения сплайсинга. Б - расположение исследуемых экзонных ВНП относительно границ экзона. Каждый круг представляет собой один ВНП. Разными цветами отмечены разные механизмы нарушения прохождения сплайсинга. В - круговая диаграмма, отображающая выявленные механизмы нарушения прохождения сплайсинга для 68 интронных ВНП в гене *SCN1A.*

3. Исследование псевдоэкзонов гена *SCN1A* и их участия в патогенезе *SCN1A*-ассоциированной эпилепсии

3.1 Разработка и валидация системы по экспрессии минигенов для псевдоэкзонов гена *SCN1A*

В гене *SCN1A* описаны 3 ПЭ: ПЭ4, локализованный в интроне 4 гена *SCN1A*, длиной в 228 нуклеотида и содержащий ПСК; ПЭ23 локализован в интроне 23 гена *SCN1A*, длиной в 64 нуклеотида включение которого в состав мРНК *SCN1A* приводит к сдвигу рамки считывания и ПЭ25 локализован в 25 интроне гена *SCN1A*, длиной в 64 нуклеотида и содержащий ПСК (рисунок 6А). Для создания системы по исследованию влияния ВНП на включение ПЭ гена *SCN1A* последовательность ПЭ совместно с 500 п.н. интронов с каждой стороны клонировали в плазмидный вектор pSpl3-Flu2 по сайтам рестрикции. Трансфекция полученных плазмид в модельную клеточную линию HEK293T с последующим ОТ-ПЦР анализом и анализом среднего уровня включения ПЭ по трем биологическим повторностям с помощью фрагментного анализа с флуоресцентно меченным плазмид-специфичным праймером выявила лишь незначительный уровень включения или полный пропуск для всех ПЭ гена *SCN1A*.

Для валидации системы по экспрессии минигена для **ПЭ4** тестированы 5 глубоко-интронных ВНП и один комплексный аллель. Показано, что 2 ВНП из базы данных gnomAD c.265-2141G>A и c.265-2153C>T не приводили к значимому изменению уровня включения ПЭ4, тогда как все остальные ВНП, усиливающие сайты сплайсинга **ПЭ4** (c.265-1947T>G, c.265-1949G>A + c.265-1947T>G) и предсказанные как разрушающие сайт связывания с RBP hnRNP A1 (c.265-2143G>A и c.265-2144A>C) значительно усиливали включение **ПЭ4**.

Для валидации системы по экспрессии минигена для **ПЭ23** протестированы **7** глубоко-интронных ВНП. Все 3 ранее описанных ВНП - c.4002+2451G>C, c.4002+2455G>A и c.4002+2461T>C приводили к значимому усилению включения **ПЭ23.** Усиление донорного сайта сплайсинга вариантом c.4002+2494T>G как и в случае с ПЭ4 привел к значительному усилению включения ПЭ23. Тестирование ВНП из базы данных gnomAD - c.4002+2459G>A, c.4002+2449G>A и c.4002+2473T>C. В первом случае наблюдался уровень включения, значимо ниже чем в контрольной конструкции, во втором уровень включения статистически значимо не отличался от контроля, а для ВНП c.4002+2473T>C установлен средний уровень включения **ПЭ23** равным 34 ± 9,4%. Предположительно, такого уровня включения ПЭ недостаточно для развития

заболевания или частичное включение может быть ассоциировано с более легким эпилептическим фенотипом.

Для валидации системы по экспрессии минигена для **ПЭ25** протестированы 5 глубоко-интронных ВНП. Усиление донорного сайта сплайсинга **ПЭ25** вариантом c.4338+672T>G привело к практически полному включению **ПЭ25**. Тестирование ранее описанного ВНП c.4338+616G>A и искусственного ВНП c.4338+615A>C, локализованного в том же предсказанном сайте связывания RBP hnRNP A1 не влияло на сплайсинг **ПЭ25**. Тестирование двух дополнительных вариантов из базы данных gnomAD (c.4338+617G>T и c.4338+652A>G) также не виляло на сплайсинг **ПЭ25**.

3.2 Подавление включения псевдоэкзонов гена *SCN1A* с помощью модифицированных антисмысловых U7-мяРНК

Коррекция сплайсинга с помощью антисмысловых олигонуклетидов (АСО) является широкораспространенным подходом для лечения наследственных заболеваний. Принято решение разработать систему на основе АСО для подавления включения ПЭ в мутантных конструкциях. Для решения данной задачи выбрана система по экспрессии модифицированных антисмысловых U7-малях ядерных РНК (мяРНК). Для эффективного подавления включения ПЭ гена *SCN1A* созданы 8 плазмид, содержащие модифицированные U7-мяРНК с антисмысловыми последовательностями, комплементарными сайтам сплайсинга ПЭ и биоинформатически предсказанным регуляторным мотивам.

Плазмиды, содержащие модифицированные антисмысловые U7-мяРНК к ПЭ гена *SCN1A* котрансфицировали в эквимолярных соотношениях в клеточную линию HEK293T. Котрансфекцию проводили с мутантной плазмидой, содержащей ВНП, тестирование которой выявило максимальный уровень включения соответствующего ПЭ (c.265+2143G>A для ПЭ4, c.4002+2451G>C для ПЭ23 и c.4338+672T>G).

В результате котранфекции мутантных плазмид с модифицированные антисмысловые U7-мяРНК успешно было подавлено включения всех ПЭ гена *SCN1A* (рисунок 7). Максимальный уровень подавления для **ПЭ4** составил 81,8±5,4% (U7-1), для **ПЭ23** - 97,5±0,85% (U7-4) и для **ПЭ25** - 99,3±0,6% (U7-8).

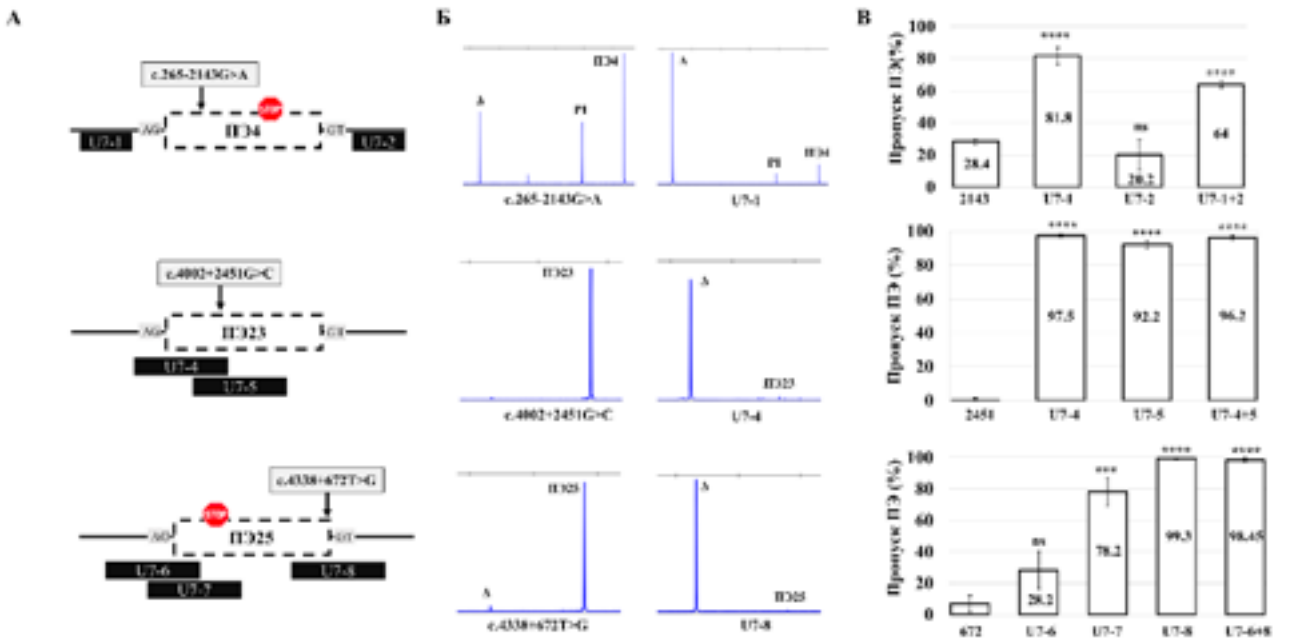


Рисунок 4. Подавление включения ПЭ гена *SCN1A* с помощью модифицированных антисмысловых U7-мяРНК. А – Схемы мутантных ПЭ с указанием варианта и областью связывания модифицированных антисмысловых U7-мяРНК (черные прямоугольники). Б – примеры фрагментного анализа мутантной конструкции для каждого ПЭ и при котрансфекции с наиболее эффективной модифицированной антисмысловой U7-мяРНК. В – Расчет среднего уровня пропуска ПЭ гена *SCN1A* при котрансфекции всеми модифицированными антисмысловыми U7-мяРНК ± SD между 3 биологическими повторностями. Средний уровень включения указан в каждом столбце. Δ – пропуск экзона, PI – частичное включение, *** p<0,001; **** p<0,0001, unpaired 2 tailed T-test

4. Гено-фенотипические корреляции в гене *SCN1A* с учетом данных функционального анализа

В связи с тем, что исследование тяжести *SCN1A*-ассоциированных фенотипов у пациентов с ВНП, влияющих на прохождение сплайсинга, не проводилось ранее, принято решение провести сравнительный анализ доли пациентов с тяжелыми и легкими фенотипами среди пациентов с ВНП, влияющими на прохождение сплайсинга, миссенс и нонсенс вариантами. Для этого проанализированы все миссенс варианты, нонсенс варианты и ВНП, аннотированные как влияющие на сплайсинг, в базе данных HGMD. В анализ включили лишь классические фенотипы – ФС, ФС+, генетическая эпилепсия с фебрильными судорогами плюс (genetic epilepsy with febrile seizures plus, GEFS+), некупируемая эпилепсия детства с генерализованными тонико-клоническими судорогами (intractable childhood epilepsy with generalized tonic-clonic seizures, ICE-GTC), пограничный СД и СД. Все фенотипы ранжировали по тяжести от 1 до 6, где первые 3 фенотипа расценены как «легкие», а фенотипы начиная с ICE-GTC как «тяжелые».

Статистический анализ показал, что доля пациентов с легкими фенотипами значимо больше в выборке пациентов с миссенс вариантами, по сравнению с пациентами с ВНП, влияющими на прохождение сплайсинга (p<0,0001, Fisher exact test) (рисунок 5А).

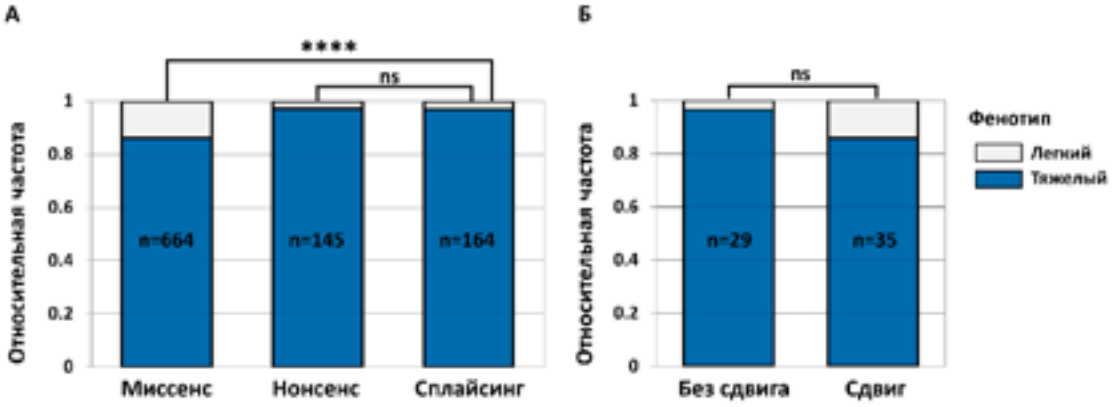


Рисунок 5. Анализ сравнения тяжести *SCN1A*-ассоциированных фенотипов у пациентов с различными типами вариантов нуклеотидной последовательности. А – Анализ сравнения относительной доли пациентов с тяжелыми (синий цвет) и легкими (серый цвет) *SCN1A*-ассоциированными фенотипами. В центре каждого столбца указано количество вариантов нуклеотидной последовательности в каждой группе. **** - p<0.0001, Fisher exact test, ns – p>0.05, Fisher exact test. Б – Анализ сравнения относительной доли пациентов с тяжелыми (синий цвет) и легкими (серый цвет) *SCN1A*-ассоциированными фенотипами среди пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности, влияющие на прохождение сплайсинга с образованием изоформ без сдвига и со сдвигом рамки считывания.

При сравнении доли пациентов с легкими фенотипами с нонсенс вариантами и ВНП, влияющими на прохождение сплайсинга, не выявлено статистически значимого отличия (p=1, Fisher exact test), что свидетельствуют о схожих фенотипических характеристиках этих двух групп. Аналогичный анализ среди пациентов с ВНП, приводящими к формированию изоформ со сдвигом и без сдвига рамки считывания среди всех функционального аннотированных ВНП в данной работе не выявил достоверной разницы в тяжести фенотипа между двумя группами (рисунок 5Б).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Beltran-Corbellini A., Aledo-Serrano A., Moller R. S. et al*. Epilepsy Genetics and Precision Medicine in Adults: A New Landscape for Developmental and Epileptic Encephalopathies // Front Neurol. 2022. V. 13. P. 777115. doi: 10.3389/fneur.2022.777115
2. *Carvill G. L., Mefford H. C.* Poison exons in neurodevelopment and disease // Curr Opin Genet Dev. 2020. V. 65. P. 98-102. doi: 10.1016/j.gde.2020.05.030

3. *Krawczak M., Reiss J., Cooper D. N.* The mutational spectrum of single base-pair substitutions in mRNA splice junctions of human genes: causes and consequences // Hum Genet. 1992. V. 90. № 1-2. P. 41-54. doi: 10.1007/BF00210743
4. *Lopez-Bigas N., Audit B., Ouzounis C. et al*. Are splicing mutations the most frequent cause of hereditary disease? // FEBS Lett. 2005. V. 579. № 9. P. 1900-3. doi: 10.1016/j.febslet.2005.02.047
5. *Lord J., Baralle D.* Splicing in the Diagnosis of Rare Disease: Advances and Challenges // Front Genet. 2021. V. 12. P. 689892. doi: 10.3389/fgene.2021.689892
6. *Ni J. Z., Grate L., Donohue J. P. et al*. Ultraconserved elements are associated with homeostatic control of splicing regulators by alternative splicing and nonsense-mediated decay // Genes Dev. 2007. V. 21. № 6. P. 708-18. doi: 10.1101/gad.1525507
7. *Symonds J. D., Zuberi S. M., Stewart K. et al*. Incidence and phenotypes of childhood-onset genetic epilepsies: a prospective population-based national cohort // Brain. 2019. V. 142. № 8. P. 2303-2318.
8. *Titus M. B., Chang A. W., Olesnicky E. C.* Exploring the Diverse Functional and Regulatory Consequences of Alternative Splicing in Development and Disease // Front Genet. 2021. V. 12. P. 775395. doi: 10.3389/fgene.2021.775395

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ЛАРВАЛЬНЫХ ГЕЛЬМИНТОЗОВ (ДИРОФИЛЯРИОЗЫ, ЭХИНОКОККОЗЫ)

В.О. Теличева [1],

биолог клиники инфекционных и паразитарных болезней

Ю.В. Киосова [1],

биолог клиники инфекционных и паразитарных болезней

С.А. Нагорный [1],

к.б.н., в.н.с. лаборатории санитарно-паразитологического мониторинга, медицинской паразитологии и иммунологии

Л.А. Ермакова [1],

к.м.н., заведующая клиникой инфекционных и паразитарных болезней, врач-инфекционист

[1] Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (344000, Ростов-на-Дону, пер. Газетный, д. 119), lab-parazit@bk.ru

Аннотация. Ларвальные гельминтозы остаются серьезной медицинской и социально-экономической проблемой во многих странах мира. Данные инвазии характеризуется длительным бессимптомным периодом и поздней диагностикой. Методы прямой диагностики остаются «золотым стандартом» и требуют высокой квалификации специалистов лабораторий. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) также является методом прямой диагностики, позволяющий обнаруживать ДНК паразитарных патогенов в различных биологических субстратах и может стать достойной альтернативой морфологической идентификации гельминтов. Нами предложены протоколы ПЦР-РВ для обнаружения ДНК дирофилярий и эхинококков в различных биологических субстратах на основе оригинальных специфичных праймеров, стандартизованных пробоподготовки и режимов амплификации. Эффективность разработанных протоколов и праймеров для выявления ДНК *D. repens* и *D. immitis* была подтверждена в клинической практике. Идентифицирован биологический материал, полученный из гистологических препаратов больных, оперированных по поводу дирофиляриоза. В обоих случаях возбудители *D.repens* верифицированы двумя методами. Для диагностики эхинококкозов нами разработан протокол пробоподготовки и амплификации с применением оригинальных специфичных праймеров для выявления ДНК *Echinococcus spp*., *E. granulosus* и *E. multilocularis*. Метод ПЦР позволяет обнаружить ДНК эхинококков в биологическом материале

от больных и животных. Параллельное применение двух методов исследования биологического материала позволит минимизировать ошибки диагностики ларвальных гельминтозов.

***Ключевые слова**:* дирофиляриозы, эхинококкозы, молекулярно-генетические методы.

Введение. Среди ларвальных гельминтозов в Российской Федерации в последние годы наиболее актуальными остаются эхинококкозы и дирофиляриозы [1]. «Золотым стандартом» диагностики паразитарных болезней являются прямые методы, направленные на обнаружение и идентификацию по морфологическим признакам паразитарных патогенов, их личинок и фрагментов в различных биологических субстратах. Однако данный метод остается трудоемким и требует наличия специальных знаний и навыков у специалистов лабораторной диагностики [2,3]. Особую трудность микроскопический метод представляет при крайне малом количестве биологического материала или необходимости исследования больших объемов субстрата, например при энтомологических исследованиях. ПЦР так же является методом прямой диагностики и обладает высокой точностью при использовании специфичных праймеров и стандартизированных режимов пробоподготовки и амплификации. Преимуществами ПЦР являются возможность исследования минимального количества биологического материала и снижение роли человеческого фактора при проведении исследования.

Цель работы. Разработка тест-систем ПЦР-РВ для обнаружения ДНК дирофилярий и эхинококков в различных биологических субстратах.

Материалы и методы. Нами подобраны и синтезированы оригинальные олигонуклеотидные праймеры на основе известных последовательностей нематод *D. repens* и *D. immitis*, известных последовательностей рода *Echinococcus spp*., видов *E. granulosus*; и *E. multilocularis,* представленных в базе данных GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Полученные последовательности нескольких пар праймеров протестированы на специфичность с помощью онлайн ресурса «NCBI BLAST» (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). К оригинальным парам праймеров разработаны протоколы пробоподготовки и режимы амплификации.

Для разработки протоколов пробоподготовки и режимов амплификации проведено 1302 исследований, в том числе: неполовозрелых самок *D. repens* - 280, неполовозрелых самок *D. immitis* - 310*,* проб крови собак с личинками дирофилярий - 224, пулов комаров с личинками дирофилярий - 152; кист человека и цист животных, содержащих протосколексы *E. granulosus* - 288, фрагментов биологического материала (ткань легкого), содержащих протосколексы *E. multilocularis* - 48.

Для идентификации ДНК *D. repens* использовали праймеры: forward 5’–CCGGTAGACCATGGCATTAT–3’ и revers 5’–CGGTCTTGGACGTTTGGTTA– 3’. Для *D. immitis*

- праймеры: forward 5’–TGATTGGTGGTTTTGGTAA–3’ и revers 5’–ATAAGTACGAGTATCAATATC– 3’. Исследование проводили в соответствии с протоколом [4].

Для идентификации гельминтов рода *Echinococcus spp*. применяли праймеры forward: 5’-AAGACGGAAAGACCCTAGGA-3’ и revers: 5’-TCAACATCGAGGTGGCAAAC-3’. Для *E. granulosus:* forward 5’-TAGTGAGTATTATGAATTTGTCT-3’ и revers 5’-CGCGAAATAACACCAAACCCCT- 3’. Для *E. multilocularis:* forward 5’-AGACATTATTTTGGTGGTTC-3’ и revers 5’-TGTACACAAATAATCACCA- 3’ [5].

Результаты. В ходе исследований оптимизированы: протокол пробоподготовки материала и режимы амплификации с оригинальными праймерами. Анализ результатов исследований показал высокую чувствительность и специфичность метода ПЦР для обнаружения ДНК дирофилярий и эхинококков.

Анализ результатов с использованием четырехпольных таблиц показал, что чувствительность метода ПЦР-РВ для обнаружения ДНК дирофилярий составила в среднем 88,00%, специфичность – 97,48%, достоверность результатов – 98,72%.

Чувствительность метода ПЦР-РВ с целью обнаружения ДНК *Echinococcus spp*. составила 100,00%, специфичность - 99,70%, достоверность – 99,70%; ПЦР-РВ для выявления ДНК *E. granulosus*: 99,31%, 97,92%, 99,65% соответственно и ДНК *E. multilocularis* 97,96%, 99,31%, 96,00% соответственно.

Обсуждение. Диагностика дирофиляриозов в клинической практике представляет особую сложность при атипичных локализациях нематод. Нами проводилось исследование биологического материала (окрашенные гистологические препараты) из пахового лимфоузла (Рис.1) и из образования правого легкого (Рис.2) больных дирофиляриозом. В обоих случаях возбудители были идентифицированы как *D.repens* параллельно морфологическим методом и ПЦР-РВ.

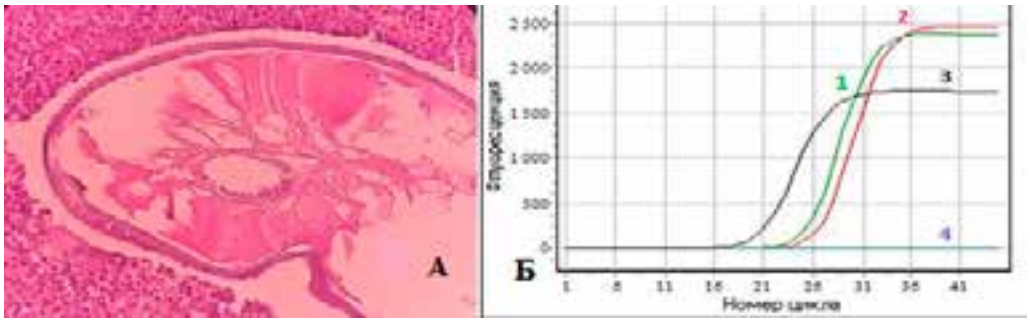


Рисунок 1. А - Гистологический препарат правого пахового лимфоузла больной С. (поперечный срез нематоды с гребневидными кутикулярными выростами); **Б** - Результаты Real-Time материала из пахового лимфоузла: 1 – положительный контрольный образец, содержащий ДНК *D. repens* с праймерами, специфичными к *D. repens*, 2 – исследуемый образец с праймерами,

специфичными к *D. repens*, 3 – положительный контрольный образец, содержащий ДНК *D. immitis* с праймерами, специфичными к *D. immitis* , 4 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *D. immitis*.

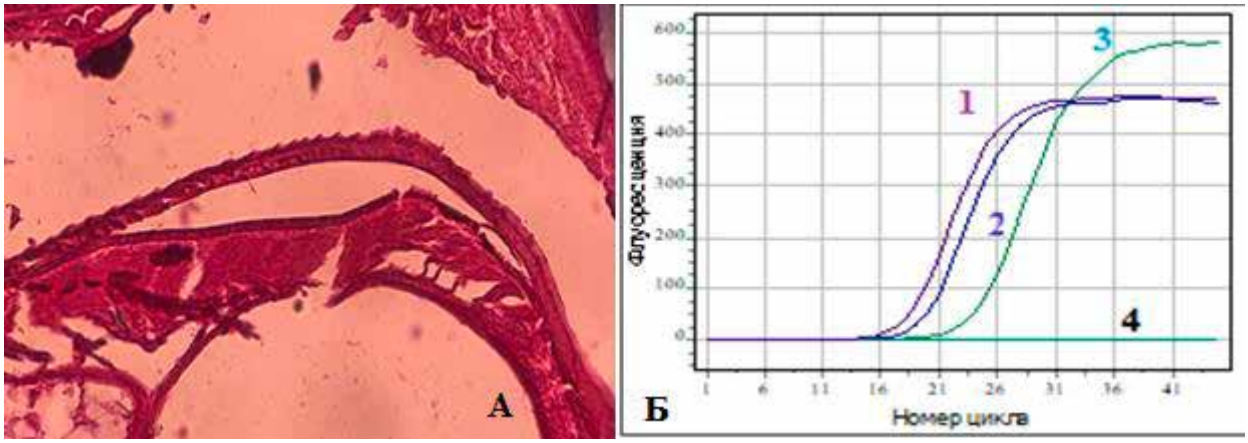


Рисунок 2. А - Гистологический срез удаленной ткани правого легкого с фрагментами паразита; **Б** - Результаты Real-Time материала из правого легкого: 1 – положительный контрольный образец, содержащий ДНК *D. repens* с праймерами, специфичными к *D. repens*, 2 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *D. repens*, 3 – положительный контрольный образец, содержащий ДНК *D. immitis* с праймерами, специфичными к *D. immitis*, 4 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *D. immitis*.

Применение ПЦР–РВ с оригинальными праймерами позволило избежать ошибки диагностики у больной, оперированной по поводу множественного эхинококкоза легких. Больной в 2021 году выполнена торакотомия и иссечение образования правого легкого, по результатам патоморфологического исследования был поставлен диагноз множественный эхинококкоз легких. При назначении противорецидивной терапии диагноз не вызывал сомнений в связи с высоким коэффициентом позитивности в иммуноферментном анализе (ИФА) с эхинококкозным антигеном. Однако наблюдение в динамике при контрольном обследовании органов брюшной полости методом компьютерной томографии выявило кальцинаты в паренхиме печени, в связи с чем, был заподозрен альвеококкоз. Ретроспективное исследование гистологическиого материала из легкого, полученного в результате оперативного вмешательства в 2021 году, методом прямой микроскопии, выявило протосколексы *E. multilocularis*. Методом ПЦР с применением оригинальных праймеров в соответствии с разработанным нами протоколом и режимом амплификации был подтвержден множественный альвеококкоз (Рис.3).

Рисунок 3. А – КТ брюшной полости; **Б** - КТ грудной клетки; **В** - Результаты Real-Time гистологического препарата *E. multilocularis*: 1 – положительный контрольный образец *Echinococcus spp*, 2 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *Echinococcus spp*, 3 – положительный контрольный образец к *E. multilocularis*, 4 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *E. multilocularis*, 5 – отрицательный контроль.

Метод ПЦР позволяет обнаружить ДНК эхинококков не только в содержимом кист и в гистологических препаратах, но и в других биологических средах.

Больной Е. 35 лет в связи с множественными кистами (5 кист диаметром от 30 до 55 мм) была рекомендована эхинококкэктомия методом PAIR. При пунктировании первой кисты у больной развился анафилактический шок, в связи с чем полноценная обработка кисты гермицидным препаратом была отсрочена до стабилизации состояния больной. При исследовании методом прямой микроскопии содержимого кисты, полученного при ее пункции обнаружены протосколексы E. *granulosus* (20-30 экземпляров в 0,1мл) (Рис.4). При ПЦР исследовании содержимого кисты получены положительные результаты: с праймерами к *Echinococcus spp*, с праймерами к *E. granulosus.* Результат ПЦР с праймерами к *E. multilocularis* был отрицательным. Исследование пробы крови (с ЭДТА) больной, полученной в течение 12 часов после оперативного вмешательства, дало положительный результат только с праймерами к *Echinococcus spp.* и к *E. granulosus*.

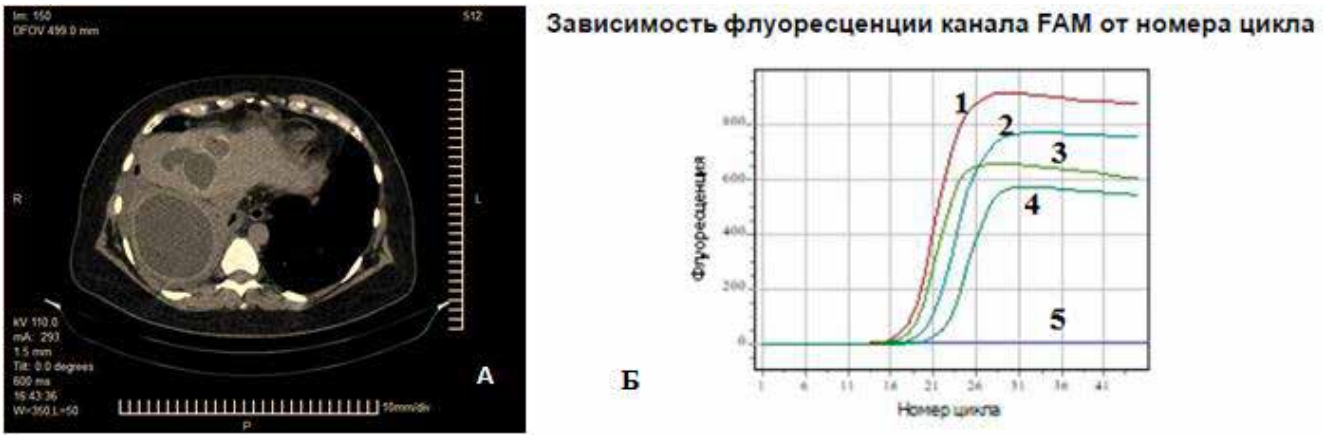


Рисунок 4. А - КТ органов брюшной полости; **Б** - Результаты Real-Time: 1 – положительный контрольный образец *Echinococcus spp*, 2 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *Echinococcus spp*, 3 – положительный контрольный образец к *E. granulosus*, 4 – исследуемый образец с праймерами, специфичными к *E. granulosus*, 5 – отрицательный контроль.

Заключение. Параллельное применение паразитологических и молекулярно-генетических методов исследования биологического материала уменьшит число ошибок при диагностике ларвальных гельминтозов. Наши методики позволяют обнаруживать ДНК возбудителей дирофилярий: в гистологических препаратах различных органов и тканей человека, личинок в крови млекопитающих, в переносчиках (комарах); а также выявлять ДНК личиночных стадий возбудителей эхинококкозов в биологическом материале от больных.

На сегодняшний день в России не зарегистрирована ни одна тест-система для ДНК-диагностики дирофиляриозов и эхинококкозов. Разработанные и запатентованные нами протоколы являются основой для разработки диагностических тест-систем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ian David Woolsey, Andrea L. Miller. Echinococcus granulosus sensu lato and Echinococcus multilocularis: A review// Research in Veterinary Science 135 (2021) 517–522. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.010

2. Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Нагорный С.А., Пшеничная Н.Ю., Болатчиев К.Х. Анализ заболеваемости человека ларвальными гельминтозами (эхинококкоз, токсокароз, дирофиляриоз) в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017. Т. 16. № 1 (92). С. 43-46.

3. Ermakova L., Nagorny S., Kornienko I.,et al. Description of the rare localization of Dirofilaria repens in human in the right inguinal lymph node // IDcases. 2021. Т. 23. С. e01010 DOI: 10.1016/j.idcr.2020.e01010

4. Патент RU 2773944 C1, 2022

5. Патент RU 2807745 C1, 2023

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ ВАРИАНТОВ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ В РАЗВИТИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.Ю. Филатова

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

Введение. Несмотря на всё большее внедрение технологий секвенирования нового поколения (NGS) в рутинную диагностическую практику, более половины пациентов с наследственными заболеваниями не получают молекулярно-генетического диагноза. Одной из причин этого является то, что в настоящее время поиск и интерпретация патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в основном фокусируется на кодирующих частях генов. В последние годы в литературе появляется всё больше исследований, подчеркивающих роль регуляторных вариантов в развитии менделирующих заболеваний. Однако обнаружение и интерпретация таких вариантов в ходе рутинного генетического тестирования остается серьезной проблемой из-за недостаточности знаний о механизмах их патогенности. Существующие сегодня биоинформатические алгоритмы в некоторых случаях могут помочь оценить влияние регуляторных вариантов на функцию гена, однако в большинстве случаев только экспериментальные исследования могут доказать связь ВНП с развитием наследственного заболевания.

Одной из важных регуляторных последовательностей генов является 5` нетранслируемая область (5` НТО, 5`UTR). До настоящей работы в 5` НТО генов было экспериментально охарактеризовано единичное количество патогенных вариантов, приводящих к развитию наследственных заболеваний. Поэтому целью данного исследования явилось систематическое изучение механизмов патогенности вариантов нуклеотидной последовательности, расположенных в 5` нетранслируемых областях.

Одной из важных групп регуляторных элементов, локализующихся в 5`-нетранслируемый областях, являются малые открытые рамки считывания (uORF). uORF располагаются до кодирующей части основного белка и могут регулировать эффективность её трансляции за счёт различных механизмов. Около половины генов человека содержат такие рамки. Исследования популяционных частот показали, что некоторые группы вариантов, разрушающих uORF, находятся под действием сильного отрицательного отбора и могут приводить к развитию менделирующих заболеваний [Whiffin N. et al., 2020]. При этом на сегодняшний день в литературе описаны лишь единичные случаи патогенных вариантов в uORF. Можно предположить, что их должно быть намного больше и что существующие рутинные диагностические алгоритмы пропускают их. Таким образом, разработка биоинформатических и

экспериментальных подходов к исследованию механизмов влияния вариантов в uORF на эффективность трансляции является актуальной задачей. Это позволит, с одной стороны, доказать патогенность вновь выявленных вариантов и установить диагноз конкретным пациентам, а с другой, углубить понимание молекулярно-генетических механизмов регуляции экспрессии генов.

Материалы и методы. Используя различные типы общедоступных данных (Ribo-seq, RNA-seq, CAGE data, ранее предсказанные uORFs) проведена вручную выверенную аннотацию сайтов инициации трансляции, находящихся в 5`-нетранслируемых областях ~3’600 генов, упоминаемых в базе данных OMIM и ответственных за развитие наследственных заболеваний. На основе полученных данных создан список малых открытых рамок считывания и *in silico* проанализировали их характеристики. Экспериментальную валидацию uORF, а также патогенных вариантов в них, проводили в модельной клеточной линии HEK293T с использованием двойного люциферазного теста. Для анализа возможного влияния генетических вариантов на эффективность трансляции был разработан биоинформатический инструмент uORF_annotator. Кроме того, проанализированы данные, любезно предоставленные различными структурными подразделениях Медико-генетического научного центра, о вариантах в 5`НТО, обнаруженных у российских пациентов с различными наследственными заболеваниями с целью поиска и доказательства патогенности вариантов в аннотированных uORF, что помогло в постановке диагноза конкретным пациентам.

Результаты и обсуждение.

В ходе работы проанализирован 3641 ген, ответственный за развитие наследственных заболеваний, из них 1242 гена ассоциированы с доминантным типом наследования и 2399 – с рецессивным или обоими типами наследования. Для проведения анализа использованы публично доступные данные, представленные на порталах GWIPS-viz [Michel A. M., et al., 2018] и Trips-Viz [Kiniry S. J. et al., 2019]. В результате в половине исследуемых генов (1889) были идентифицированы альтернативные старты инициации трансляции в 5`НТО, при это 20% генов не содержали таких стартов, тогда как для 30% генов не было доступных данных для анализа.

В общей сложности аннотировано ~4,7 тысячи альтернативных стартов инициации трансляции, с которых начинаются два типа uORF:(1) uORF, неперекрывающиеся с основной кодирующей последовательностью гена (non-overlapping uORF); (2) uORF, перекрывающиеся с основной кодирующей последовательностью гена (overlapping uORF) (Рисунок 1А). При этом более половины генов содержали более одной uORF (Рисунок 1Б). Отдельно стоит отметить, что 71% всех альтернативных стартов инициации трансляции соответствовали кодонам, отличным

от ATG (Рисунок 1A). Анализ данных рибосомного прафайлинга показал, что уровень трансляции uORF часто выше, чем у соответствующей основной кодирующей части гена (CDS), а также, что ATG-начинающиеся uORF значительно эффективнее транслируются, чем не-ATG

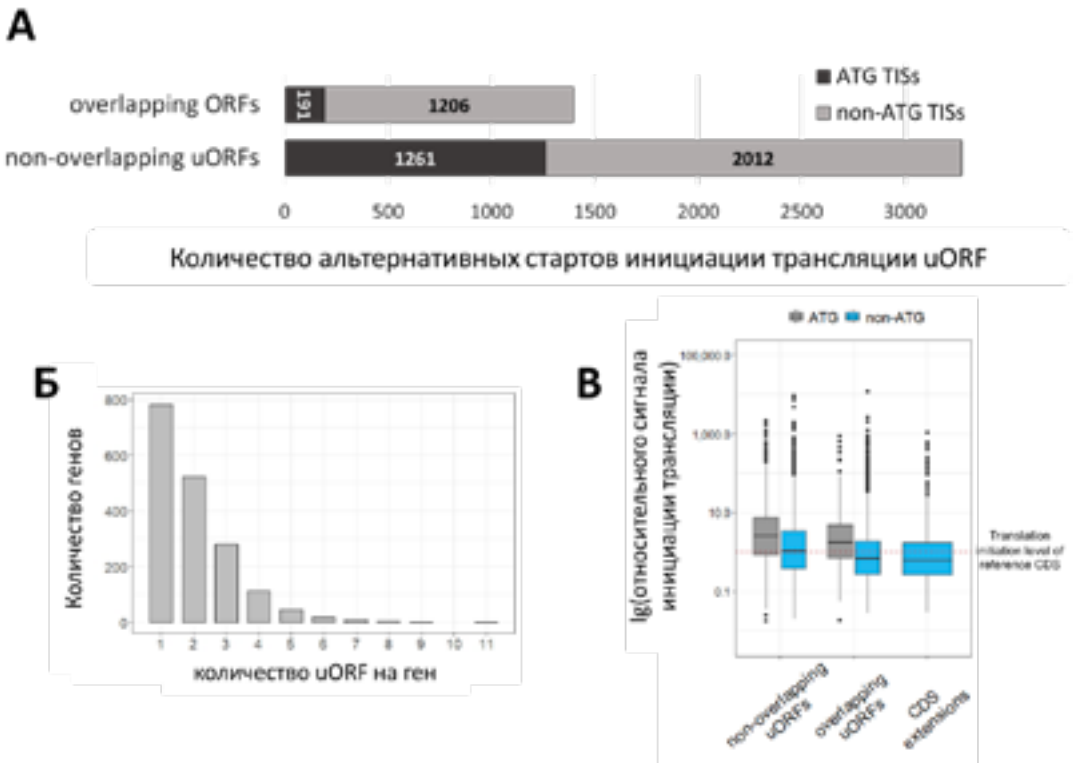


Рисунок 1. (A) Типы альтернативных стартов инициации трансляции для uORF; (Б) Распределение количества uORF в генах, ассоциированных с развитием наследственных заболеваний; (В) Относительный уровень инициации трансляции разных типов uORF, начинающихся с канонических ATG кодонов и неканоничсеких кодонов

начинающиеся (Рисунок 1B).

На следующем этапе работы проведена экспериментальная проверка трансляции восьми аннотированных uORF: двух перекрывающихся (в 5`НТО генов *PAX9* and *MAST1)* и шести неперекрывающихся (в 5`НТО генов *HTT, TTN, GLI2, COL2A1, LAT* и *SET)*. Для проведения анализа полноразмерные 5'НТО с несколькими первыми кодонами изучаемых генов были клонированы в вектор psiCHECK-2. В ходе клонирования 5'НТО сливали с люциферазой *Renilla* так, что CDS люциферазы начинался со старт кодона исследуемого гена. Одновременно оригинальный старт-кодон люциферазы удаляли из конечных плазмид. Далее в полученные конструкции дикого типа вводили мутации, разрушающие uORF, и анализировали их влияние на трансляцию основной рамки считывания с использованием двойного люциферазного теста в клеточной линии HEK293T. В результате мы подтвердили наличие трансляции всех альтернативных uORF, начинающихся с ATG-кодона (для генов *PAX9*, *MAST1, HTT, TTN, GLI2*

и *COL2A1)*, тогда как трансляция рамок, начинающихся не с ATG кодонов не была обнаружена в данной системе (для генов *LAT* и *SET*) (Рисунок 2).

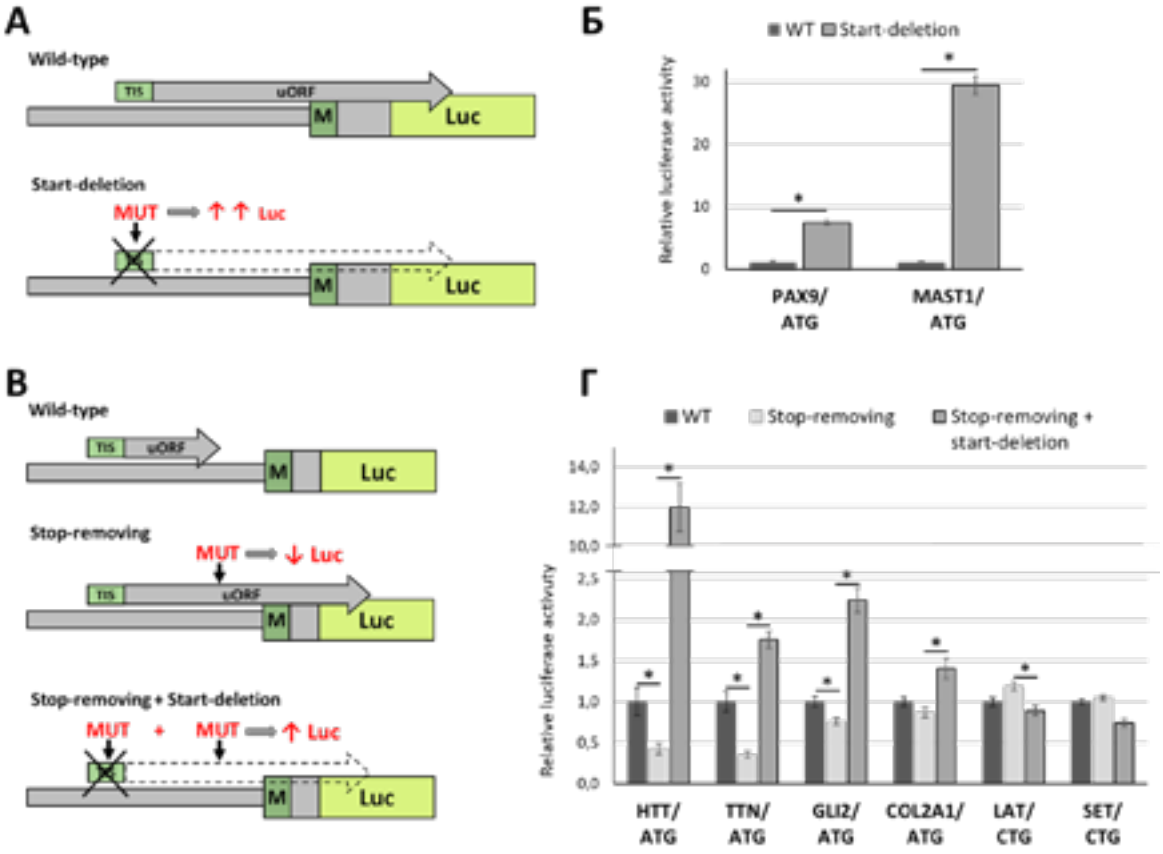


Рисунок 2. Экспериментальное подтверждение трансляции аннотированных uORF, перекрывающиеся с основной кодирующей последовательностью гена (overlapping uORF) (А, Б) и неперекрывающиеся с основной кодирующей последовательностью гена (non-overlapping uORF) (В, Г); (А, В) – схемы плазмид, использхуемых в экспериментах; (Б, Г) – результаты двойного люциферазного теста, проведенного в клетках HEK293T, трансфицированных каждой из описанных плазмид. Данные представлены относительно соответсвующих конструкций дикого типа как среднее ± SEM (*p < .05) для четырёх биологических повторностей.

Далее в ходе исследования был создан программный инструмент для аннотирования эффектов генетических вариантов, расположенных в аннотированных ранее uORF (*uORF Annotator*). В качестве входных данных программа принимает VCF файл с интересующими вариантами нуклеотидной последовательности. На выходе программа выдаёт обновленный VCF-файл, в который добавлена информация о месторасположении и предполагаемом влиянии варианта на структуру uORF. В дополнение к аннотированному VCF-файлу инструмент генерирует BED-файлы, которые можно загрузить в геномный браузер (например, IGV) для визуализации влияния варианта на структуру uORF. Используя данный биоинформатический тул, проанализированы все патогенные/вероятно-патогенные варианты и варианты с

неизвестным клиническим значением из базы данных ClinVar, а также патогенные варианты из базы данных HGMD. Данный анализ выявил ранее описанные патогенные варианты, а также варианты с неизвестным клиническим значением, механизм действия которых может быть связан с разрушением uORFs. Также были проанализированы популяционные вариант из базы данных gnomAD. Показано, что распределение групп вариантов, по-разному влияющих на uORF, различается между патогенными и популяционными вариантами, что подчёркивает роль вариантов, нарушающих структуру ATG начинающихся uORF в развитии наследственной

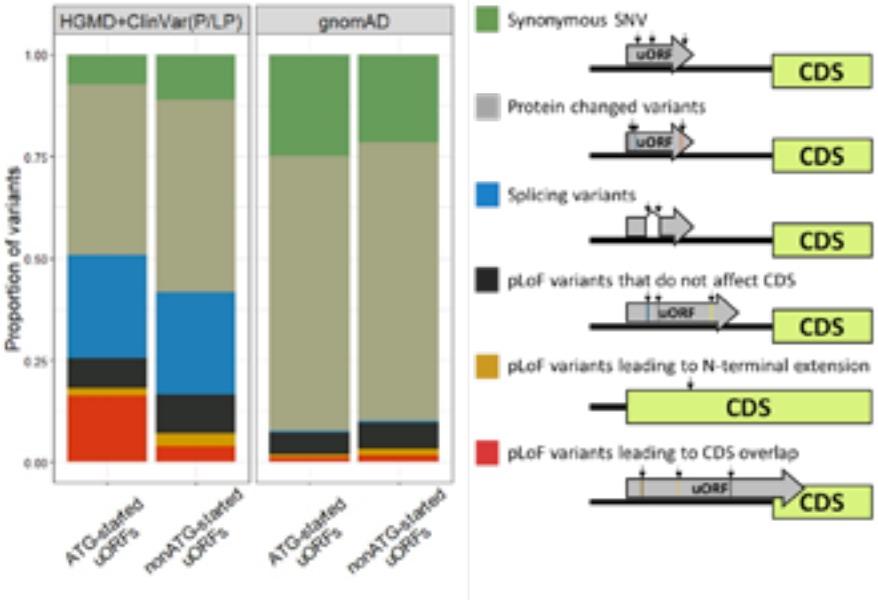


Рисунок 3. Анализ патогенных и вероятно патогенных вариантов из баз данных HGMD (DM) и ClinVar (P/LP), а также популяционных вариантов из базы данных gnomAD с использованием собственного тула uORF Annotator. Доля различных типов генетических вариантов, влияющих на uORF, начинающихся с ATG и не-ATG кодонов, среди патогенных/вероятно патогенных вариантов (HGMD+ClinVar) и популяционных вариантов из gnomAD. Последствия различных типов вариантов схематически изображены справа от диаграммы.

патологии (Рисунок 3).

Для некоторых вариантов, расположенных в 5`НТО генов и обнаруженных у конкретных пациентов с наследственными заболеваниями (как в российских выборках, так и в опубликованных ранее зарубежных), проведено экспериментальное подтверждение их влияние на эффективность трансляции белка. Для этого также использовали двойной люциферазный тест аналогично с тем, как было описано выше. В результате доказано патогенное влияние пяти вариантов в 5'НТО гена *PAX6,* одного варианта – в гене *ETFDH1*, одного варианта – в гене *NF1*, одного варианта – в гене *NF2* (Рисунок 4). Данный анализ с позволил переклассифицировать исследуемые варианты из группы вариантов с неизвестным клиническим значением в группу вероятно патогенных, что помогло установить точный молекулярно-генетический диагноз пациентам. Кроме того, настоящая работа пролила свет на регуляцию экспрессии данных генов в норме.

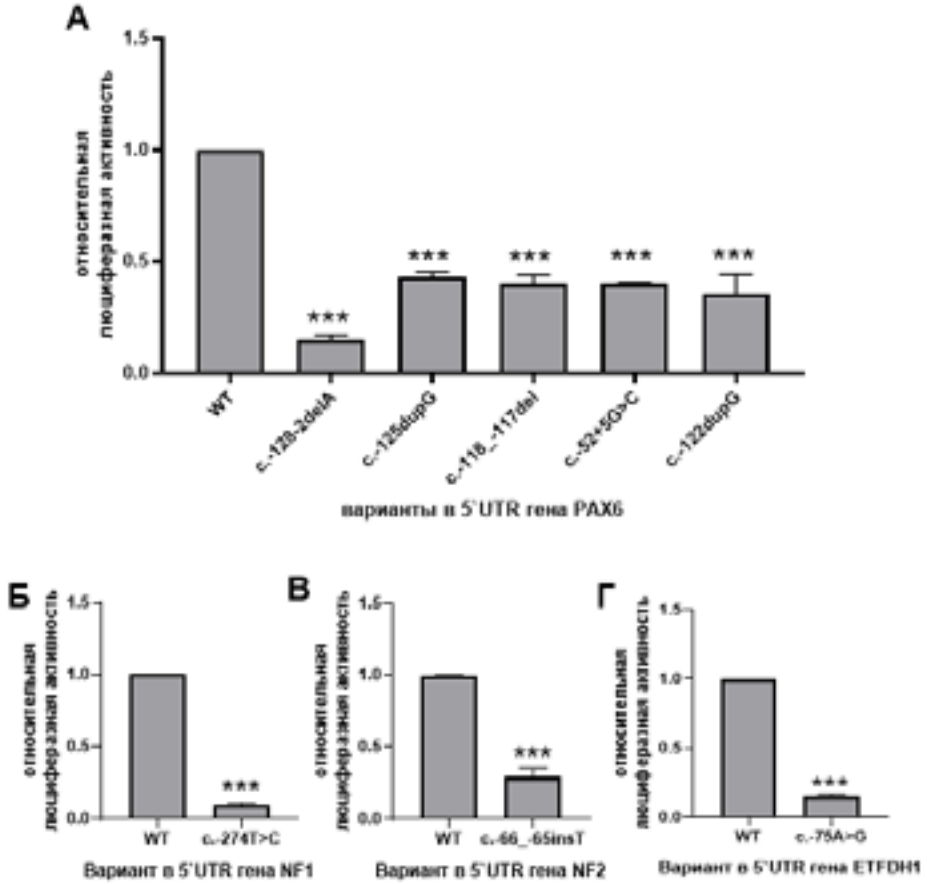


Рисунок 4. Экспериментальное подтверждение влияния выявленных у пациентов с наследственными заболеваниями вариантов в uORF генов PAX6 (А), NF1(Б), NF2 (Б), ETFDH1 (Г). Результаты представлены в виде двойного люциферазного теста, проведенного в клетках HEK293T, трансфицированных плазмиды, содержащие 5`НТО дикого типа (WT) и с исследуемыми вариантами для каждого из генов. Данные представлены относительно соответствующих конструкций дикого типа как среднее ± SEM (***p < .001) для четырёх биологических повторностей.

Заключение. Настоящая работа подчеркивает важность исследования 5`нетранслируемой области в ходе проведения ДНК-диагностики пациентов с наследственными заболеваниями, а также проливает свет на существующие механизмы патогенности таких вариантов. Кроме того, представлен полезный инструмент для интерпретации вариантов в 5`НТО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kiniry S. J., O'Connor P. B. F., Michel A. M., Baranov P. V. Trips-Viz: a transcriptome browser for exploring Ribo-Seq data // Nucleic Acids Res. – 2019. – V. 47. – № D1. – P. D847-D852. doi: 10.1093/nar/gky842

2. Michel A. M., Kiniry S. J., O'Connor P. B. F., Mullan J. P., Baranov P. V. GWIPS-viz: 2018 update // Nucleic Acids Res. – 2018. – V. 46. – № D1. – P. D823-D830. doi: 10.1093/nar/gkx790

3. Whiffin N., Karczewski K. J., Zhang X., Chothani S., Smith M. J., Evans D. G., Roberts A. M., Quaife N. M., Schafer S., Rackham O., Alfoldi J., O'Donnell-Luria A. H., Francioli L. C., Genome Aggregation Database Production T., Genome Aggregation Database C., Cook S. A., Barton P. J. R., MacArthur D. G., Ware J. S. Characterising the loss-of-function impact of 5' untranslated region variants in 15,708 individuals // Nat Commun. – 2020. – V. 11. – № 1. – P. 2523. doi: 10.1038/s41467-019-10717-9

СЕКВЕНИРОВАНИЕ ВИРУСА ГЕПАТИТА В ПРИ ПОМОЩИ NGS

М.Д. Чанышев [1], Н.В. Власенко [1], А.Г. Глущенко [1,2]

[1] ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

[2] Московский физико-технический институт

Гепатит В, заболевание печени, вызываемое вирусом гепатита В (ВГВ), является глобальной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Известно, что геноварианты вируса и отдельные мутации связаны с особенностями течения заболевания и такими исходами, как цирроз печени (ЦП) и гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), которые являются основными причинами смертности при вирусном гепатите. В опубликованных работах, как правило, секвенировались отдельные участки вирусного генома при относительно небольшом количестве образцов.

***Цель настоящей работы**:* исследование геновариантов ВГВ и мутаций, которые могут быть связаны с повышенным риском развития ЦП и ГЦК.

В рамках клинического исследования были отобраны 109 образцов крови, полученных от пациентов, наблюдающихся по поводу гепатита В в профильных медицинских центрах г. Москвы. У 15 пациентов диагностирован ЦП, у 5 - ГЦК. Нуклеотидные последовательности вируса гепатита В были получены при помощи разработанной и апробированной нами панели праймеров для полногеномного секвенирования ВГВ методом NGS. Средний процент покрытия генома ВГВ составил 93%. 63, 21, 14, 9, 1 и 1 образец представляли подтипы D1, D2, D3, A2, B1 и C1 соответственно. Мутация rtA181S встречалась у двоих пациентов, на фоне терапии тенофовиром. У 20 пациентов встречалась хотя бы одна мутация в S-белке, связанная с ускользанием от поствакцинального иммунитета, в том числе sT118V, sA128V, sF/Y134K, sD144E. Среди прочих, мутации 375C>T и 775A>C ($p = 0{,}008$ и $p = 0{,}0002$) чаще встречались в группе пациентов с ГЦК (референс X02763). Мутации 113C>A ($p = 0{,}0008$) и 1025C>A ($p = 0{,}004$) были ассоциированы с ЦП. Полученные результаты представляют высокий научный интерес и определяют перспективы дальнейших исследований в данном направлении.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ЦЕЛИАКИЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ЮГЕ РОССИИ

Е.А. Черкасова [1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ставрополь, Россия

[2]ГБУЗ СК «Городская детская клиническая больница им. Г.К. Филиппского», Ставрополь, Россия

Введение. Целиакия – это хроническая аутоиммунная Т-клеточная энтеропатия, характеризующаяся генетической детерминированностью и стойкой непереносимостью специфических белков эндосперма зерна некоторых злаковых культур с развитием атрофической энтеропатии и связанного с ней синдрома мальабсорбции. Генетическую предрасположенность к развитию заболевания, а также степень риска его манифестации, определяет генотип системы HLA, а именно, гаплотипы HLA-DQ2 и HLA-DQ8 [1, 2, 3]. Данные ряда исследований демонстрируют, что у большинства пациентов с целиакией определяется гетеродимер DQ2 – 90-95%. В то же время гетеродимер DQ8 встречается лишь у 5-10% больных [4]. Доля гаплотипа HLA-DQ7 в генетической структуре целиакии незначительна, а роль данной молекулы в отношении механизмов манифестации заболевания остается дискутабельной [5]. При отсутствии в генотипе типичных аллелей развитие заболевания маловероятно [6, 7].

Влияние генетических факторов на течение и тяжесть клинических симптомов целиакии на сегодняшний день остается неоднозначным. Согласно данным литературы, наличие того или иного гаплотипа HLA связано с различной степенью риска манифестации заболевания, обусловленного так называемым дозозависимым эффектом генов («gene dosage effect»), который определяется различным качественным и количественным составом молекул HLA на поверхности антигенпрезентирущих клеток, являющихся одним из ключевых звеньев в реализации патогенетических механизмов целиакии [8, 9, 10, 11].

В 2004 году M.P. Jeannin и соавт. предложили классификацию, согласно которой генотип HLA-DQ подразделяется на 5 групп генетически детерминированного риска развития целиакии (G1-G5) со снижением степени риска от категории G1 к категории G5 [12]. Исследования, проведенные на территории Российской Федерации (2012), продемонстрировали преобладание аллелей, несущих низкий риск манифестации целиакии, что отличает нашу страну от европейских государств, где преобладают генотипы высокого риска [7, 13].

Незначительное количество российских исследований, посвящённых изучению закономерностей течения целиакии в зависимости от HLA-гаплотипа и степени генетического риска, отсутствие данных об этом аспекте диагностики у детей и подростков, проживающих на Юге России, послужили предпосылками для выполнения исследования.

Цель исследования: изучить структуру гаплотипов HLA-DQ в детской популяции Ставропольского края и выявить клинические, серологические и морфологические особенности целиакии у детей и подростков в зависимости от степени генетически детерминированного риска манифестации заболевания.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 134 детей с диагнозом «целиакия», установленным на основании клинических, серологических и морфологических критериев ESPGHAN, находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении ГБУЗ СК «ДГКБ им. Г.К. Филиппского» г. Ставрополя за период с 2001 по 2022 гг. Возраст пациентов от 8 месяцев до 17 лет, из которых было 55 (41,0%) мальчиков и 79 (59,0%) девочек (средний возраст детей на момент постановки диагноза 5,0 ± 0,4 лет). Всем пациентам, включенным в исследование, проведено HLA-типирование аллелей предрасположенности к целиакии.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета компьютерных программ Attestat, Statistica 10.0, Microsoft Excel 2016 с использованием параметрических и непараметрических методов. Описательная статистика включала расчет медианы (Me) и 1-го и 3-го квартиля [1Q и 3Q]. При нормальном распределении достоверность различий оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента. В случае ненормального распределения параметрических показателей оценка проводилась при помощи U-критерия Манна-Уитни и критерия Уилкоксона. Достоверность различий непараметрических показателей рассчитывалась по критерию χ^2. Различия между признаками считались статистически достоверными при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. HLA-позитивные гаплотипы выявлены у 134 (100,0%) пациентов. У 109 (81,3%) детей выявлен аллель DQ2, у 18 (13,4%) – DQ8, и лишь у 7 (5,3%) человек – DQ7.

Аллель DQ2 в 1,4 раза чаще встречался у девочек – 72 (91,1%) из 79 пациентов, чем у мальчиков – 37 (67,3%) из 55 детей ($p <0,001$). Аллель DQ8, напротив, в 5 раз чаще имели мальчики – 14 (25,5%) случаев, чем девочки – 4 (5,1%) случая ($p<0,001$). Аллель DQ7 выявлен у 3 (3,8%) девочек и 4 (7,3%) мальчиков.

В зависимости от сочетания специфических аллелей и от различного качественного и количественного состава молекул HLA на поверхности антигенпрезентирующих клеток включенные в исследование пациенты разделены на 5 групп риска развития целиакии (G1-G5) с тенденцией к снижению генетического дозозависимого эффекта от категории G1 к категории G5 (табл. 1).

Таблица 1. Распределение DR-DQ-аллелей у обследованных пациентов

DR-генотип	DQ-генотип		Серотип	Gene dose effect	Риск развития целиакии	Кол-во пациентов	Частота (%)
G1	A1*05	B1*02	DQ2 cis	Гомозиготы 2 копии	Высокий	12	9,0
	A1*05	B1*02					
G1	A1*05	B1*02	DQ2 tranc	Гомозиготы 2 копии	Высокий	29	21,6
	A1*201	B1*02					
G2	A1*05	B1*301	DQ2 tranc	Гетерозиготы 1 копия	Существенный	13	9,7
	A1*201	B1*02					
G3	A1*05	B1*02	DQ2 DQ7	Гетерозиготы 1 копия	Существенный	28	20,9
	A1*05	B1*301					
G3	A1*05	B1*02	DQ2 DQ8	Гетерозиготы 1 копия	Умеренный	9	6,7
	A1*03	B1*302					
G3	A1*05	B1*02	DQ2 cis	Гетерозиготы 1 копия	Существенный	12	9,0
	A1*0X	B1*0X					
G4	A1*0201	B1*02	DQ2 cis	Гомозиготы 2 копии	Высокий	7	5,2
	A1*0201	B1*02					
G4	A1*0201	B1*02	DQ2 DQ8	Гомозиготы 1 копия	Умеренный	3	2,2
	A1*0301	B1*0302					
G4	A1*0301	B1*0302	DQ8		Низкий	15	11,2
	A1*0301	B1*0302					
G5	A1*0X	D1*0X	DQX DQX		Низкий	6	4,5
	A1*0X	D1*0X					

Высокий генетически детерминированный риск развития целиакии был обнаружен у 35,8% пациентов, существенный – у 39,5%, умеренный и низкий генетический риск развития заболевания обнаружен у 9,0% и 15,7% обследованных детей и подростков соответственно.

В таблице 2 представлена частота клинических симптомов целиакии у обследованных детей и подростков в зависимости от степени генетически детерминированного риска развития заболевания.

Таблица 2. Частота клинических симптомов целиакии в зависимости от степени генетического риска

Клинические симптомы целиакии	Степень генетического риска			
	высокий, n – 48	существенный, n – 53	умеренный, n – 12	низкий, n - 21
«Большие» симптомы целиакии				
диарея	23 (47,9%)	32 (60,4%)	4 (33,3%)	18 (85,7%)
вздутие и увеличение размеров живота	21 (43,8%)	27 (50,9%)	7 (58,3%)	14 (66,7%)
рецидивирующие боли в животе	29 (60,4%)	18 (33,9%)	7 (58,3%)	14 (66,7%)
рвота	11 (22,9%)	12 (22,6%)	1 (8,3%)	4 (19,0%)
нарушение аппетита	20 (41,7%)	17 (32,1%)	2 (16,7%)	11 (52,4%)
раздражительность, агрессивность	10 (20,8%)	16 (30,2%)	3 (25,0%)	9 (42,9%)
дефицит масса тела	28 (58,3%)	27 (50,9%)	6 (50%)	17 (80,9%)
задержка роста	23 (47,9%)	21 (39,6%)	2 (16,7%)	15 (71,4%)
«Малые» симптомы целиакии				
боли в костях/ногах	4 (8,3%)	2 (3,8%)	2 (16,7%)	1 (4,8%)
кариес	-	1 (1,9%)	-	1 (4,8%)
головные боли	7 (14,6%)	4 (7,5%)	-	-
беспокойный сон	8 (16,7%)	7 (13,2%)	-	8 (38,1%)
запоры	7 (14,6%)	5 (9,4%)	-	3 (14,3%)
кожные высыпания	5 (10,4%)	13 (24,5%)	3 (25,0%)	10 (47,6%)

В клинической картине у пациентов группы высокого генетического риска преобладали жалобы на абдоминальные боли – 29 (60,4%) случаев и дефицит массы тела 28 (58,3%). Несколько реже встречались типичные гастроинтестинальные проявления – диарея (47,9%), вздутие и увеличение размеров живота (43,8%), нарушение аппетита (41,7%). У детей с целиакией, имеющих существенный генетический риск манифестации заболевания, жалобы на рецидивирующие абдоминальные боли встречались в 1,8 раз реже, чем у пациентов высокого риска (p = 0,008). Наиболее частыми жалобами у пациентов низкого риска являлась диарея - 18 (85,7%) случаев, дефицит массы тела – 17 (80,9%) и задержка роста – 15 (71,4%). При этом жалобы на диарею превосходили таковые в 1,8 раз по сравнению с группой высокого риска (p = 0,004), и в 1,4 раз по сравнению с группой существенного риска (p = 0,036). Задержка роста у пациентов с низким генетическим риском встречалась в 1,8 раз чаще, чем у пациентов с существенным риском (p = 0,014) и в 4,3 раза чаще, по сравнению с группой умеренного риска (p = 0,003). Среди «малых» симптомов целиакии у пациентов с высоким генетическим риском преобладала неврологическая симтоматика: головные боли – 7 (14,6%) случаев и беспокойный сон – 8 (16,7%) случаев. У пациентов группы умеренного генетического риска превалировали такие внекишечные проявления как оссалгии – 2 (16,7%) случаев и кожные высыпания – 3 (25,0%) случаев.

Выявленный полиморфизм клинических проявлений среди групп генетического риска манифестации целиакии отражает единство патофизиологических механизмов возникновения заболевания и не имеет четкой взаимосвязи с сочетанием аллелей HLA-DQ на поверхности антигенпрезентирующих клеток.

В таблице 3 представлен уровень специфических для целиакии антител в зависимости от степени генетически детерминированного риска ее манифестации.

Таблица 3. Уровень специфических антител у обследованных пациентов в зависимости от степени генетического риска

Показатель	**Степень генетического риска**			
	высокий, n – 48	**существенный, n – 53**	**умеренный, n – 12**	**низкий, n - 21**
Анти-ТТГ IgA, Ед/мл	173,1 [59,8; 200,0]	100,0 [48,9; 130,2]	37,2 [21,2; 62,6]	43,1 [22,5; 72,3]
Анти-ТТГ IgG, Ед/мл	12,9 [2,8; 22,9]	10,0 [1,5; 23,2]	18,7 [1,2; 21,8]	20,8 [2,1; 23,1]
ЭМА, Ед/мл	480 [160; 1280]	640 [80; 640]	960 [480; 1920]	80 [2,5; 80]
АГА-IgA, Ед/мл	80,0 [24,7; 99,9]	31,9 [15,9; 86,7]	72,3 [31,5; 92,9]	17,6 [6,5; 25,1]
АГА-IgG, Ед/мл	73,9 [33,5; 144,2]	76,5 [23,3; 134,1]	49,7 [28,4; 69,1]	18,6 [9,9; 30,1]

Наиболе высокие уровни антител выявленны в группе высокого генетического риска. Так, уровень анти - ТТГ IgA у пациентов с высокой степенью риска в 4,7 раз выше, чем у пациентов

группы умеренного риска (p = 0,036) и в 4,0 раза выше по сравнению с пациентами низкого риска (p <0,001). Наиболее низкий уровень ЭМА выявлен у пациентов, имеющих низкий генетический риск развития целиакии – 80 [2,5; 80] Ед/мл, что соответвтенно в 6,0 и в 8,0 раз ниже, по сравнению с пациентами групп высокого (p = 0,049) и существенного риска (p = 0,042). Уровень АГА-IgA также имеет тенденцию к снижению по мере уменьшения дозозависимого эффекта генов: так, наиболее высокие его значения выявлены у пациентов группы высокого риска – 80,0 [24,7; 99,9] Ед/мл, что в 2,5 раз выше, чем в группе существенного риска (p = 0,018) и в 4,5 раз выше, чем у пациентов низкого риска (p <0,001). Показатель АГА-IgG в группе высокого риска составил 73,9 [33,5; 144,2] Ед/мл, достоверно превышая данное значение в 3,9 раз у пациентов, имеющих низкую степень генетически детерминированного риска (p = 0,002).

На рисунке 1 представлены данные морфологического исследования СОТК с определением степени атрофии кишечных ворсин в соответствии с классификацией Marsh – Oberhuber (рис. 1).

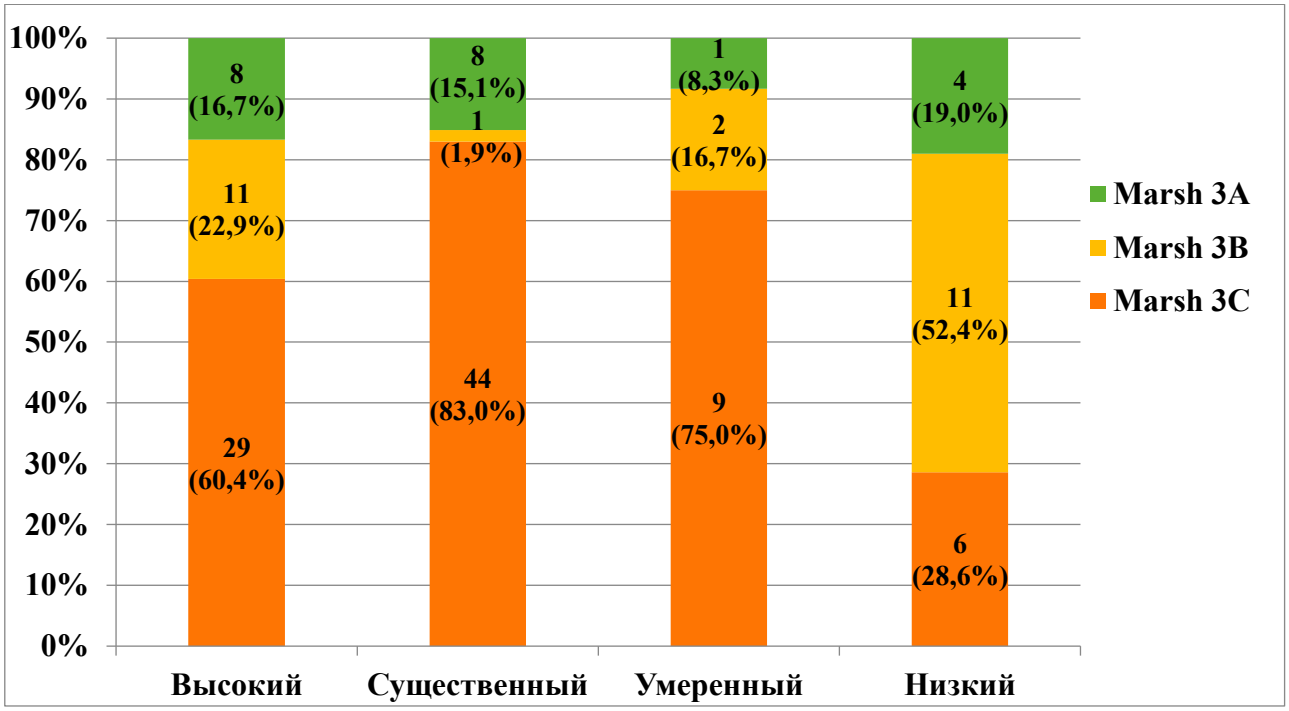


Рисунок 1. Структура стадий атрофии слизистой тощей кишки по Marsh-Oberhuber в зависимости от степени генетического риска

У пациентов групп высокого, существенного и умеренного генетического риска в морфологической структуре атрофии слизистой оболочки тонкой кишки преобладала тотальная степень атрофии кишечных ворсин, соответствующая стадии Marsh 3C, при этом наибольшая частота выявления данной стадии отмечалась у пациентов существенного риска – 44 (83,0%) случаев, превышая таковую в 1,4 раза у пациентов высокого риска (p = 0,012) и в 2,9 раз у пациентов низкого риска (p < 0,001). В то же время в структуре стадий атрофии ворсин слизистой

оболочки тонкой кишки у пациентов низкого риска отмечалось преобладание умеренной степени атрофии, соответствующей стадии Marsh 3B – 11 (52,4%) случаев, что в 3,1 раза выше, по сравнению с группой умеренного риска (p = 0,044) и в 2,3 раза выше, чем у пациентов высокого риска (p = 0,016). У пациентов группы существенного риска умеренная степень атрофии ворсин встречалась в 1,9% случаев. Доля пациентов с изменениями ворсин слизистой оболочки тонкой кишки, соответствующими стадии Marsh 3A в зависимости от степени генетического риска существенных различий не имела.

Анализируя полученные данные, можно заметить, что по мере уменьшения дозозависимого эффекта генов отмечается снижение уровня специфических антител, уменьшение доли пациентов с тотальной степенью атрофии ворсин слизистой оболочки тонкой кишки, соответствующей стадии Marsh 3C и превалирование в морфологической структуре умеренной степени атрофии кишечных ворсин. Таким образом, можно предположить, что сочетание специфических аллелей HLA-DQ оказывает определенное влияние на степень нарушения архитектоники кишечных ворсин и, соответственно, предопределяет высокие уровни серологических маркеров целиакии на момент верификации диагноза.

Выводы

1. В структуре гаплотипов HLA-DQ у детей и подростков с целиакией, проживающих на Юге России, отмечается преобладание генетически детерминированных форм с гаплотипом HLA-DQ2 – 81,3%. На втором месте по частоте выявления находится гаплотип HLA-DQ8 – 13,4%. Гаплотип HLA-DQ7 на сегодняшний день встречается достаточно редко (5,3%), его вклад в генетическую структуру заболевания на сегодняшний день остается дискутабельным.
2. Выявленный полиморфизм клинических проявлений у пациентов с различной степенью генетически детерминированного риска манифестации целиакии, отсутствие при любой из них превалирующих симптомов и жалоб делает необходимым осуществление диагностического поиска целиакии не только среди пациентов с типичными гастроинтестинальными проявлениями, но и у детей с неспецифической симптоматикой.
3. По мере уменьшения степени генетического риска манифестации целиакии отмечается снижение уровня специфических для заболевания антител, уменьшение доли пациентов с тотальной степенью атрофии ворсин слизистой оболочки тонкой кишки и увеличение доли пациентов с умеренной степенью атрофических изменений в тонкой кишке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всероссийский консенсус по диагностике и лечению целиакии у детей и взрослых / А.И. Парфенов, С.В. Быкова, Е.А. Сабельникова [и др.]. Терапевтический архив. 2017; 89(3): 94–107.
2. Особенности диагностики и лечения различных форм непереносимости белка пшеницы / Г.Н. Янкина, Е.И. Кондратьева, Е.В. Лошкова [и др.]. Вопросы детской диетологии. – 2017. – №15 (1). – С. 13–24.
3. Целиакия у детей: проект клинических рекомендаций / Е. А. Рославцева,Ю. А. Дмитриева, И. Н. Захарова [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – № 188 (4). – С. 199–227.
4. Генетические маркеры целиакии: современные представления / И.Н. Захарова, Т.Э. Боровик, Е.А. Рославцева [и др.] // Педиатр. – 2014. – №5 (2). – С.19 –24.
5. Genetic susceptibility and celiac disease: what role do HLA haplotypes play? / M. Sciurti, F. Fornaroli, F. Gaiani [et al.] // Acta Biomed. – 2018. – Vol. 89 (9-S). – P. 17–21.
6. Структура HLA-DR-DQ-генотипа у детей с целиакией / Ю.А. Дмитриева, Е.А. Рославцева, В.А. Курьянинова [и др.] // Медицинский совет. – 2020. – №10. – С. 74–80.
7. Classical celiac disease is more frequent with a double dose of HLA-DQB1*02: A systematic review with meta- analysis / J. Bajor, Z. Szakacs, N. Farkas [et al.] // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14 (2). – P. e0212329. – DOI: 10.1371/journal.pone.0212329.
8. Предиктивная значимость генотипа HLA-DQ2.2 для детей с целиакией /Н.С. Шаповалова, В.П. Новикова, М.О. Ревнова [и др.] // Доказательная гастроэнтерология. – 2018. – № 7 (4). – С. 6-10. – DOI:10.17116/dokgastro201870416.
9. Different binding motifs of the celiac disease-associated HLA molecules DQ2.5, DQ2.2, and DQ7.5 revealed by relative quantitative proteomics of endoge- nous peptide repertoires / E. Bergseng, S. Dorum, O. Magnus [et al.] // Immunoge- netics. – 2015. – Vol. 67 (2). – P. 73–84.
10. Different DRB1*03:01 DQB1*02:01 haplotypes confer different risk for celiac disease / S. Alshiekh, L.P. Zhao, A. Lernmark [et al.] // HLA. – 2017. – Vol. 90(2). – P. 95–101.
11. Presence of DQ2.2 Associated with DQ2.5 Increases the Risk for Celiac Disease / L.M. Almeida, L. Gandolfi, R. Pratesi [et al.] // Autoimmune Dis. – 2016.
12. Целиакия у детей / под ред. С.В. Бельмера, М.О. Ревновой. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медпрактика-М, 2013. – 414 с.
13. Celiac disease and HLA-DQ genotype: diagnosis of different genetic risk pro-files related to the age in Badajoz, southwestern Spain / M.J. Fernández-Cavada- Pollo, M.I. Alcalá-Peña, M.L. Vargas-Pérez [et al.] // Rev Esp Enferm Dig. – 2013. – Vol. 105 (8). – P. 469–476.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ И ОЦЕНКЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА РАЗВИТИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ РАССТРОЙСТВ БЕРЕМЕННОСТИ

Т.И. Шишканова, А.Е. Маркина, Д.А. Капитанова, Л.А. Автайкина

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»

Введение

Главным вектором современного акушерства является снижение материнской и перинатальной смертности в результате причин, обусловленных так называемыми «большими акушерскими синдромами», к которым относится преэклампсия, преждевременные роды, плацентарные нарушения и недостаточный рост плода [1]. Преэклампсия представляет собой жизнеугрожающее состояние, характерное для периода второй половины беременности (после 20-ой недели гестации), и встречающееся в среднем у 14% беременных. Достоверно известно, что развитие преэклампсии ассоциировано с высоким риском преждевременных родов, задержки роста плода, антенатальной гибели плода, жизнеугрожающих кровотечений, полиорганной недостаточности и т.д., что определяет значительные социально-экономические затраты здравоохранения, направленные на их коррекцию. Более того, согласно исследованиям, преэклампсия приводит к повышению риска возникновения сердечно-сосудистых и неврологических осложнений у матери в отдаленном периоде [2]. Однако, несмотря на четко установленные критерии постановки диагноза, патофизиологические аспекты возникновения преэклампсии остаются предметом дискуссий, что затрудняет профилактические мероприятия и раннюю диагностику данной патологии.

В настоящее время в качестве ключевого патофизиологического механизма, определяющего развитие преэклампсии и ее осложнений, рассматривается эндотелиальная дисфункция в результате дефектной плацентации и патологии ангиогенеза [3-6]. Однако, многочисленные исследования демонстрируют семейную предрасположенность к развитию гипертензивных расстройств беременности [7-9]. Таким образом, анализ генетических факторов риска может способствовать лучшему пониманию механизмов возникновения преэклампсии и определению подходов к прогнозированию и коррекции осложнений.

Материалы и методы

В период с 2018 по 2022 гг. на базе ГБУЗ Республики Мордовия «Мордовская республиканская центральная клиническая больница» проведено обсервационное проспективное исследование 173 пациенток с целью определения нарушений гемокоагуляционной и антиоксидантной систем в ассоциации с полиморфизмом генов системы гемостаза. Включение пациенток в исследование проходило по мере обращаемости. Все пациентки были ознакомлены с целью и методологией исследования и дали письменное добровольное информированное

согласие на участие в научном исследовании. Критериями включения являлись: возраст беременных (18-45 лет), одноплодная беременность в сроке гестации 22-41 неделя, а также отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии. Диагностика ПЭ была проведена в соответствии с клиническими протоколами «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» (2016) и «Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и в послеродовом периоде» (2020). Все пациентки были разделены на 3 группы: 1 группа (n=63) – беременные с умеренной ПЭ, 2 группа (n=58) – пациентки с тяжелым течением ПЭ, 3 группа (контроль) (n=52) – беременные с физиологически протекающей беременностью.

В работе использованы скрининговые методы лабораторной диагностики системы гемостаза, а также специальные методы исследования – тромбоэластография (ТЭГ) (аппарат TEG® 5000 Thrombelastograph®(USA)), определение маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности методом спектрофотометрии. Изучение гемодинамики микроциркуляторного русла осуществлялось с использованием аппарата ЛАКК – 02 (НПП «Лазма», Россия). Определение полиморфизма генов проведено методом ПЦР диагностики (Real–time ПЦР с помощью CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (США)).

Результаты и обсуждение

Проведенное нами исследование отражает состояние тромботической готовности при развитии преэклампсии различной степени тяжести. Для анализа внутреннего и внешнего пути свертывания крови были использованы скрининговые методы лабораторной диагностики. В качестве показателя, отражающего внутренний путь свертывания крови, использованы значения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Зафиксировано укорочение АЧТВ на 17,65% ($p<0,05$) в группе женщин с умеренным течением ПЭ, и на 32,98% ($p<0,05$) – у женщин с тяжелой ПЭ относительно здоровых беременных. По мере утяжеления патологии происходит активация внешнего пути свертывающей системы, что находит отражение в виде лабораторного снижения показателей ПВ относительно 3 группы – на 17,52% ($p<0,05$) при умеренном течении ПЭ и на 36,42% ($p<0,05$) при тяжелой ПЭ. Достоверно значимое укорочение ПВ зафиксировано в результатах других исследований гемостаза [10-13].

Согласно современной клеточной теории гемостаза, образование значительного количества тромбина («тромбиновый взрыв») оказывает влияние на активацию и адгезию тромбоцитов [14]. Таким образом, косвенным подтверждением гипертромбинемии вследствие значительной активации свертывающей системы при ПЭ является снижение уровня тромбоцитов, что находит подтверждение в нашем исследовании – отмечается уменьшение количества тромбоцитов в группе умеренной ПЭ на 15,11% ($p<0,05$) и в группе тяжелой ПЭ на

29,94% ($p<0,05$) относительно 3 группы. Кроме того, тромбин является ключевым фактором в реакции активации фибриногена, что также может служить косвенным лабораторным подтверждением роста тромботической активности при ПЭ. Наибольшая статистически значимая гиперфибриногенемия отмечается при тяжелом течении ПЭ – уровень фибриногена в плазме крови беременных превышает аналогичный показатель в группе здоровых беременных на 23,54% ($p<0,05$), а при умеренной ПЭ – на 7,94% ($p<0,05$). Процессы коагуляции крови находятся под строгим контролем противосвертывающей системы. При развитии преэклампсии и утяжеления ее течения происходит срыв адаптационных механизмов и снижение антикоагулянтных влияний. Одним из наиболее значимых и мощных антикоагулянтов, участвующих в снижении коагулянтной активности путем образования комплекса с тромбином и некоторыми другими факторами свертывания (Xa, IXa и XIa), является антитромбин III. Статистически значимое снижение уровня антикоагулянтной активности антитромбина III по сравнению с группой контроля зафиксировано как в группе умеренной – на 11,10% ($p<0,05$), так и в группе тяжелой ПЭ – на 21,28% ($p<0,05$). Проведенный анализ ключевых лабораторных показателей гемостаза в рамках нашего исследования соотносится с работой Bhutani N. и соавт., демонстрирующими уменьшение тромбоцитов, снижение АЧТВ и ПВ при утяжелении патологии [15].

Анализ коагуляционного состояния крови при ПЭ в рамках нашего исследования также был проведен с использованием тромбоэластографии (ТЭГ), как одного из «глобальных» тестов оценки системы гемостаза. В отличие от лабораторных профилей свертывания крови, изолированно свидетельствующих об изменениях в каскаде свертывания крови, параметры ТЭГ позволяют проанализировать активность факторов свертывания, тромбоцитов и фибриногена в условиях их взаимодействия. Показатели ТЭГ в дополнение к лабораторным данным отражают динамику формирования кровяного сгустка, а также его основные физические свойства – плотность, эластичность и размер. Таким образом данные, полученные с помощью ТЭГ, в определенной степени превосходят стандартные лабораторные тесты оценки гемостаза, в частности у беременных с преэклампсией, что обеспечивает более точную экспериментальную основу для мониторинга функции свертывания крови у данной категории пациенток [16].

В проведенном нами исследовании отмечается ускорение процессов тромбообразования как в группе умеренной, так и тяжелой ПЭ. При умеренной ПЭ средние значения времени реакции (R) и образования сгустка (K) составляют 3,58±0,22 мин. и 1,18±0,08 мин. соответственно, что превышает аналогичные показатели в группе контроля на 13,11% ($p<0,05$) и 31,79% ($p<0,05$) соответственно. Утяжеление патологии ведет к более значимым изменениям – показатели R и K ниже аналогичных показателей в 1 группе на 18,44% ($p<0,05$) и 19,49% ($p<0,05$) соответственно. Подтверждением лабораторных данных, свидетельствующих об увеличении

активности тромбоцитов и фибриногена, является рост показателей максимальной амплитуды (МА) и α – угла относительно группы 3 на 15,17% ($p<0,05$) и 25,26% ($p<0,05$) соответственно. В группе тяжелой ПЭ вышеуказанные показатели составили 81,4±4,39% и 86,1±4,73 deg, что на 32,79% и 48,96% выше аналогичных показателей при умеренном течении ПЭ. По данным ТЭГ зафиксировано повышение прочности сгустка (G) на фоне снижения фибринолитической активности (EPL – расчетный процент лизиса). Показатель G был статистически значимо выше относительно группы контроля как в группе 1 – на 30,72% ($p<0,05$), так и в группе 2 – на 88,36% ($p<0,05$). Снижение литической активности зафиксировано в виде снижения EPL на 19,33% в группе умеренной ПЭ. При утяжелении патологии данный показатель составил 1,47±0,09%, что на 23,44% и 38,24% и ниже по сравнению с группой 2 и здоровыми беременными.

Результаты нашего исследования позволяют предположить возникновение локальной гиперкоагуляции при ПЭ, что соотносится с данными других исследований [16, 17-19]. Пациентки с ПЭ находятся в локальном патологическом состоянии гиперкоагуляции, которое аналогично периоду гиперкоагуляции при ДВС-синдроме [3, 20]. Вышеуказанные данные, а также результаты собственных исследований демонстрируют значимость гемостатической дисфункции эндотелия в патогенезе преэклампсии.

Локальный микротромбоз также может быть ассоциирован с недостаточным притоком кислорода и развитию гипоксически-ишемических процессов в плаценте, что приводит к развитию микроциркуляторных нарушений и ухудшает маточно-плацентарный кровоток [6]. Результаты нашего исследования демонстрируют существенные изменения микроциркуляторного русла. По литературным данным, гемодинамика микрососудистого русла обусловлена согласованным влиянием активных механизмов регуляции: эндотелиального – 20%, нейрогенного – 20% и миогенного – 20%. Реализация вышеуказанных механизмов регуляции просвета сосудов происходит через мышечный компонент сосудистой стенки, что обеспечивает адекватный поток крови [21]. При развитии тяжелой ПЭ происходит срыв адаптационных механизмов, обеспечивающих регуляцию просвета сосудов, в сторону увеличения миогенного тонуса на 20,45% ($p<0,05$) наряду со снижением нейрогенной регуляции на 30,77% ($p<0,05$) относительно нормальных значений в группе здоровых беременных. Данные изменения приводят к закономерному прогрессивному снижению показателя микроциркуляции (ПМ): в группе умеренной ПЭ – на 11,97% ($p<0,05$) относительно группы 3. При развитии тяжелой ПЭ данный показатель составляет 0,82±0,05, что на 20,39% ниже по сравнению с группой 1. Одним из ключевых показателей, определяющих вклад активных и пассивных механизмов регуляции и отражающих газообмен в тканях, является индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ). Проведенное нами исследование демонстрирует снижение ИЭМ – 0,98±0,05 и 0,83±0,06 в группе 1 и 2 соответственно, что на 14,78% ($p<0,05$) и 27,83% ($p<0,05$) ниже относительно группы

контроля в группе 1 и 2 соответственно. Ухудшение микроциркуляторного кровообращения влечет за собой возрастание влияния роли других компенсаторных механизмов, в частности увеличения шунтирования крови. Наибольшее значение показателя шунтирования (ПШ) зафиксировано в группе тяжелой ПЭ и составляет 1,85±0,09, что на 72,90% ($p<0,05$) и 38,06% ($p<0,05$) выше аналогичных значений в группе контроля и умеренной ПЭ соответственно. Изменение ПМ в группе 1 и 2 позволяет предположить аномальный ангиогенез в зоне недостаточного кровообеспечения, что согласуется с исследованиями, демонстрирующими дисбаланс между ангиогенными и антиангиогенными факторами при преэклампсии [22].

Полученные результаты согласуются с работой Cornette et al., в которой было показано значительное снижение ИЭМ у пациенток с развитием HELLP-синдрома [23]. Предполагается, что развитие микроциркуляторных нарушений может быть ассоциировано с аномальным ангиогенезом и развитием вазомоторной эндотелиальной дисфункции [22]. Однако вопросы микроциркуляторных нарушений при ПЭ остаются предметом дискуссии и требуют дальнейших исследований в данном направлении.

Состояние внутрисосудистой гиперкоагуляции и локального микротромбообразования, а также ухудшение микроциркуляции создают предпосылки для развития процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях, что может служить еще одним неблагоприятным фактором в прогрессировании эндотелиальной дисфункции, как ключевого звена патофизиологии ПЭ. Обеспечивая адекватную инвазию цитотрофобласта, ПОЛ является важным фактором в развитии физиологической гестации. Однако дефектный ангиогенез приводит к развитию ишемических процессов и интенсификации окислительных процессов в тканях в условиях недостаточной эффективности антиоксидантного контроля. В рамках нашего исследования было обнаружено статистически значимое повышение ферментативной активности фосфолипазы А2 и каталазы в группе 1 на 117,07% ($p<0,05$) и 83,87% ($p<0,05$) соответственно относительно группы контроля. В то время как уровень антиоксидантной активности супероксиддисмутазы (СОД) прогрессивно снижался в группе умеренной (3,08±0,24 усл.ед.) и тяжелой ПЭ (2,78±0,23 усл. Ед.), что соответствует снижению на 36,63% ($p<0,05$) и 42,8% ($p<0,05$) соответственно. Результаты проведенного нами анализа антиоксидантного контроля в условиях ПЭ согласуются с литературными данными [24]. Подтверждением существенной интенсификации ПОЛ служит увеличение основных продуктов окисления – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Зафиксирован рост концентрации ДК в плазме крови беременных на 75,0% ($p<0,05$) и 100,0% ($p<0,05$) при умеренной и тяжелой ПЭ соответственно. Концентрация МДА в плазме беременных 1 и 2 групп составила 3,46±0,27 нмоль/г белка и 4,87±0,42 нмоль/г белка соответственно, что на 36,76% ($p<0,05$) и 92,49% ($p<0,05$) аналогичного показателя в группе контроля. Накопление высоких концентраций свободных радикалов приводит к повреждению

билипидного слоя клеточных мембран и увеличению концентрации свободных жирных кислот в плазме крови (табл. 1).

Таблица 1. Распределение липидов (%) плазмы крови беременных при ПЭ (M±m)

Показатель	Здоровые беременные, n=52	Умеренная преэклампсия, n=63	Тяжелая преэклампсия, n=58
Суммарные Фосфолипиды	37,68±1,17	32,82±1,23*	30,03±1,26*
Холестерол	35,46±1,16	31,86±1,21*	30,91±1,17*
Свободные жирные кислоты	2,63±0,14	3,49±0,21*	4,26±0,23*[1]
Эфиры холестерола	7,36±0,48	10,65±0,28*	12,89±0,41*[1]
Триацилглицеролы	9,41±0,46	16,19±0,48*	19,03±0,81*

Более того, свободнорадикальное окисление молекулы оксида азота, являющегося важным вазорелаксирующим фактором, приводит к продукции значительного количества пероксинитритов – мощных оксидантных факторов, что замыкает порочный круг патогенеза. Снижение вазорелаксирующих влияний на сосудистую стенку вызывает повышение артериального давления и утяжеление течения патологии [24].

В настоящее время одним из наиболее актуальных вопросов является поиск генетических аспектов патофизиологических механизмов при ПЭ. Доля генетического компонента в развитии ПЭ по данным разных авторов варьирует от 55 до 60% [25-27]. В качестве генетических факторов риска ПЭ в настоящее время рассматриваются варианты генов системы гемостаза: антитромбина III, белка С, белка S, фактора V Лейдена, метилентетрагидрофолатредуктазы, фактора XIII и протромбина [28-31]. По данным исследований, наличие генетического полиморфизма вышеуказанных генов было ассоциировано с неблагоприятными тромбоэмболическими событиями вне беременности, что создает предпосылки для изучения генетических влияний как дополнительного фактора риска ПЭ.

В рамках нашего исследования был проведен анализ частоты встречаемости полиморфизма некоторых генов тромбоцитарных интегринов ((T1565C) ITGB3, (C807T) ITGA2, (G(-455) A)) и фибриногена (FGB) в ассоциации с расстройствами гемокоагуляции, интенсивностью ПОЛ и антиоксидантной активностью.

Распределение частоты полиморфных вариантов генов системы гемостаза представлено в таблице 2.

Таблица 2. Распределение частоты генетических полиморфизмов генов системы гемостаза при ПЭ в исследуемых группах

Группа	Генотип и его частота, (n, %)			Аллель и его частота, (n, %)	
	T/T	*T/C*	*C/C*	*T*	*C*
ITGB3 (T1565C)					
Группа контроля (n=52)	38 (73,1)	10 (19,2)	4 (7,7)	43,0 (82,7)	9,0 (17,3)
I (n=63)	27 (42,9)	22 (34,9)	14 (22,2)	38 (60,3)	25 (39,7)
II (n=58)	12 (20,7)	19 (32,8)	27 (46,5)	21,5 (37,1)	36,5 (62,9)
ITGA2 (C807T)					
	C/C	*C/T*	*T/T*	*C*	*T*
Группа контроля (n=52)	43 (82,7)	8 (15,4)	1 (1,9)	47 (90,4)	5 (9,6)
I (n=63)	35 (55,5)	17 (27,0)	11 (17,5)	43,5 (69,0)	19,5 (31,0)
II (n=58)	12 (20,7)	26 (44,8)	20 (34,5)	25,0 (43,1)	33 (56,9)
1	2	3	4	5	6
FGB (G(-455)A)					
	G/G	*G/A*	*A/A*	*G*	*A*
Группа контроля (n=52)	44 (84,6)	8 (15,4)	-	48,0 (92,3)	4 (7,7)
I (n=63)	32 (50,8)	20 (31,7)	11 (17,5)	42 (66,7)	21 (33,3)
II (n=58)	9 (15,5)	28 (48,3)	21 (36,2)	23 (39,7)	35 (60,3)

Ген ITGA2 кодирует α2-субъединицу мембранного гликопротеина интегрина-α2, представляющий собой один из рецепторов коллагена и отвечающий за адгезию тромбоцитов. Согласно литературным данным, замена нуклеинового основания С (цитозина) на Т (тимин) в позиции 807 вызывает изменение структуры и свойств коллагенового рецептора и, как следствие, повышению адгезии тромбоцитов [31-34]. По некоторым данным носительство аллеля Т гена ITGA2 ассоциировано с высоким риском тромбоэмболических осложнений у небеременных пациентов, в том числе в молодом возрасте [31, 33-36]. Полученные нами результаты демонстрируют высокую частоту встречаемости полиморфных вариантов С/Т и Т/Т гена интегрина альфа-2 в группе беременных с тяжелым течением ПЭ – 44,48% и 34,5% ($\chi2$=20,0, p=0,001, OR=12,5 (3,82–42,45)) соответственно. Для тяжелого течения ПЭ характерна высокая частота носительства гомозиготных вариантов (С/С) гена ITGB3 – 46,6% ($\chi2$=5,84, p=0,01, OR=5,29 (1,26–22,25), в то время как в группе 1 превалируют гомозиготные варианты по аллелю

T – 42,9% ($\chi 2$=4,21, p=0,04 и OR=3,0 (1,0–8,7)). Согласно исследованию Бородиной И. Е. и соавт. носительство гомозиготных вариантов гена ITGB3 (T1565C) ассоциировано с развитием резистентности к антиагрегантному действию ацетилсалициловой кислоты [32].

Нами были исследованы полиморфные варианты гена фибриногена (G(-455)A), как одного из маркеров плазменного звена гемостаза. Выявление полиморфных мутаций G(-455)A регуляторной области гена является предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [37]. По данным S. Kathiresan и соавт. носительство патологического аллеля А ассоциировано с гиперфибриногенемией [38]. В проведенном нами исследовании в группе беременных с тяжелым течением ПЭ отмечается повышение частоты встречаемости протромбогенных вариантов G/A и A/A – 48,3% и 36,2% ($\chi 2$=24,3, p=0,001, OR=42,0 (5,1–357,1)).

На основании полученных данных методом линейной регрессии было получено уравнение расчета индекса прогнозирования риска преэклампсии. Наиболее значимыми критериями расчета стали следующие параметры: фибриноген, ПТИ, уровень тромбоцитов крови, ИЭМ, уровень АД, наличие мутантного аллеля исследованных генов (подготовлена заявка на патент).

Выводы

Возникающие при преэклампсии гиперкоагулемические нарушения ассоциированы с ухудшением гемодинамики микроциркуляторного русла и развитием гипоксически-ишемических расстройств, что значимо повышает интенсивность процессов перекисного окисления липидов, в соответствии со степенью тяжести патологии. Тяжелое течение преэклампсии коррелирует с носительством протромбогенных аллелей некоторых генов системы гемостаза (ITGB3 (T1565C), ITGA2 (C807T), FGB (G(-455)A)). Комплексная оценка показателей гемостаза, микроциркуляции и генетического профиля пациента может улучшить прогнозирование развития и течения гипертензивных нарушений беременных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудрявцева Е. В., Ковалев В. В., Баранов И. И., Угаров И. В. Прогнозирование развития больших акушерских синдромов на основании мультилокусного генетического анализа: результаты ретроспективного сравнительного когортного исследования // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76, № 3. – С. 244-253.

2. Garovic V. D., Dechend R., Easterling T., Karumanchi S. A., McMurtry Baird S., Magee L. A., Rana S., Vermunt J. V., August P. Hypertension in Pregnancy: Diagnosis, Blood Pressure Goals, and Pharmacotherapy: A Scientific Statement from the American Heart Association // Hypertension. – 2022. - № 2. - P. 21–41.

3. Staff A. C. The two-stage placental model of preeclampsia: An update // Journal of reproductive immunology. – 2019. – P. 134-135.

4. Han C., Chen Y. Y., Dong J. F. Prothrombotic state associated with preeclampsia // Current opinion in hematology. – 2021. - №28 (5). – P. 323-330.

5. Власова Т.И., Трофимов В.А., Арсентьева Е.В., Ситдикова А.В., Шишканова Т.И. Роль генетических особенностей кодирования фибриногена в нарушении микроциркуляции при гиперкоагулемии // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2022. - №2 (62). – С. 156-165.

6. Xu C., Li Y., Zhang W., Wang Q. Analysis of perinatal coagulation function in preeclampsia // Medicine (Baltimore). – 2021. -№100 (26). – P.26-48.

7. Skjaerven R., Vatten L. J., Wilcox A. J., Rønning T., Irgens L. M., Lie R. T. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort // BMJ : British Medical Journal. (Clinical research ed.). - 2005. - №7521 (331). – P. 877.

8. Valenzuela F. J., Pérez-Sepúlveda A., Torres M. J., Correa P., Repetto G. M., Illanes S. E. Pathogenesis of Preeclampsia: The Genetic Component // Journal of Pregnancy. - 2012.

9. Williams P. J., Broughton Pipkin F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy // Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology. - 2011. -№ 4 (25). – P. 405.

10. Баринов С. В., Долгих В. Т., Медянникова И. В. Гемокоагуляционные нарушения у беременных с гестозом // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. - №6. – С. 5-11.

11. Бышевский А. Ш., Полякова В. А., Рудзевич А. Ю. Гемостаз при физиологической беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклампсией // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. - №4 (44). – С. 13-30.

12. Мельников А. П., Богданова Е. В., Ахведиани К. Н. Изменения гемокоагуляции при физиологически протекающей беременности // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2023. - №2. – С. 26-33.

13. Katz D., Beilin Y. Disorders of coagulation in pregnancy // British journal of anaesthesia. – 2015. - №115. – P. 75-88.

14. Счастливцев И. В., Лобастов К. В., Цаплин С. Н., Мкртычев Д. С. Современный взгляд на систему гемостаза: клеточная теория // Медицинский совет. – 2019. - №16. – С. 72-77.

15. Bhutani N., Jethani V., Jethani S., Ratwani K. Coagulation profile and platelet parameters in pregnancy induced hypertension cases and normotensive pregnancies: A cross-sectional study // Annals of Medicine and Surgery. - 2022. - №80. - P. 80.

16. Lidan H., Jianbo W., Liqin G., Jifen H., Lin L., Xiuyan W. The diagnostic efficacy of thrombelastography (TEG) in patients with preeclampsia and its association with blood coagulation // Open Life Sciences. – 2019. - №1. – P. 335-341.

17. Armstrong S., Fernando R., Ashpole K., Simons R., Columb M. Assessment of coagulation in the obstetric population using ROTEM® thromboelastometry // International Journal of Obstetric Anesthesia. - 2011. - № 4. - P. 293–298.

18. Xie X., Wang M., Lu Y., Zeng J., Wang J., Zhang C., Zhu H., Song Y., Han L., Liu Y., Zhang J., Li L., Chen L., Zhai Y., Cao Z. Thromboelastography (TEG) in normal pregnancy and its diagnostic efficacy in patients with gestational hypertension, gestational diabetes mellitus, or preeclampsia // Journal of clinical laboratory analysis. - 2021. - № 2. - P. 23.

19. Xu Z. H., Jiao J. R., Yang R., Luo B. Y., Wang X. F., Wu F. Aspirin resistance: clinical significance and genetic polymorphism // The Journal of international medical research. - 2012. -№ 1. - P. 282-92.

20. Han C., Chen Y.Y., Dong J.F. Prothrombotic state associated with preeclampsia // Current opinion in hematology. - 2021. - № 5. - P. 323-330.

21. Бархатов И. В. Оценка системы микроциркуляции крови методом лазерной допплеровской флоуметрии // Клиническая медицина. – 2013. - №11. – С. 21- 27.

22. Ospina-Tascón G. A., Nieto Calvache A. J., Quiñones E., Madriñan H. J., Valencia J. D., Bermúdez W. F., Carvajal J., Escobar M. F., de Backer D. Microcirculatory blood flow derangements during severe preeclampsia and HELLP syndrome // Pregnancy hypertension. - 2017. - №10. – P. 124-130.

23. Cornette J., Herzog E., Buijs E. A., Duvekot J. J., Rizopoulos D., Hop W. C., Tibboel D., Steegers E. A. Microcirculation in women with severe pre-eclampsia and HELLP syndrome: a casecontrol study // BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology. – 2014. - №121 (3). – P. 363-370.

24. Taravati A., Tohidi F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia // Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology. - 2018. - № 6 (57). - P. 779–790.

25. Boyd H. A., Tahir H., Wohlfahrt J., Melbye M. Associations of personal and family preeclampsia history with the risk of early-, intermediate- and late-onset preeclampsia // American journal of epidemiology. - 2013. - № 11 (178). – P. 1611–1619.

26. Gray K. J., Saxena R., Karumanchi S. A. Genetic predisposition to preeclampsia is conferred by fetal DNA variants near FLT1, a gene involved in the regulation of angiogenesis // American journal of obstetrics and gynecology. - 2018. - № 2 (218). – P. 211-218.

27. Phipps E. A., Thadhani R., Benzing T., Karumanchi S. A. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies // Nature reviews. Nephrology. - 2019. - № 5 (15). - P. 275-289.

28. Berks D., Duvekot J. J., Basalan H., De Maat M. P., Steegers E. A., Visser W. Associations between phenotypes of preeclampsia and thrombophilia // European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. – 2015. - №194. – P. 199–205.

29. Elzein H. O., Saad A. A., Yousif A. A., Elamin E., Abdalhabib E. K., Elzaki S. G. Evaluation of Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in Sudanese women with severe preeclampsia // Current research in translational medicine. – 2020. - №68 (2). – P. 77–80.

30. Robertson L., Wu O., Langhorne P., Twaddle S., Clark P., Lowe G. D., Walker I. D., Greaves M., Brenkel I., Regan L., Greer I. A., Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study (2006). Thrombophilia in pregnancy: a systematic review // British journal of haematology. - 2006. - №132 (2). – P. 171–196.

31. Шишкина Е. А., Хлынова О. В., Василец Л. М., Сахена В., Кривцов А. В. Значимость полиморфизма C807E гена рецептора к коллагену ITGA2 и агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с артериальной гипертензией // казанский медицинский журнал. – 2019. - №100 (3). – С. 386-391.

32. Бородина И. Э., Попов А. А., Шардина Л. А., Агеев А. Н. Артериит Такаясу: ассоциалция с полиморфизмами генов гемокоагуляции // Якутский медицинский журнал. – 2019. - №2. – С. 106-109.

33. Reznik E. V., Shcherbakova E. S., Borisovskaya S. V., Gavrilov Y. V., Pajeva T. M., Lepkov S. V., Mironkov A. B., Dzhobava E. M., Nikitin I. G. ST-elevation myocardial infarction, pulmonary embolism, and cerebral ischemic stroke in a patient with critically low levels of natural anticoagulants // Journal of cardiology cases. - 2020. - № 3. - P. 106–109.

34. Liu H., Wang Y., Zheng J., Li G., Chen T., Lei J., Mao Y., Wang J., Liu W., Zhao G., Tacey M., Yan B. Platelet glycoprotein gene Ia C807T, HPA-3, and Ibα VNTR polymorphisms are associated with increased ischemic stroke risk: Evidence from a comprehensive meta-analysis // International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society. - 2017. - № 1. - P. 46–70.

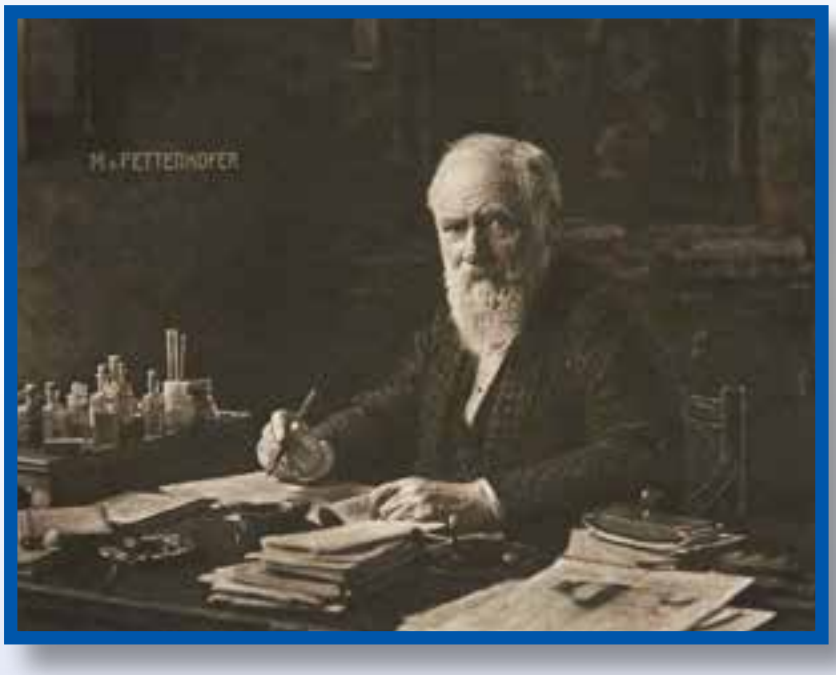
35. Бакиров Б.А., Сахаутдинова И.В., Марон А.Д. Особенности системы гемостаза у беременных с осложненным акушерским анамнезом // Креативная хирургия и онкология. – 2018. - №2. -С. 125-129.

36. Yuan J., Jiang Z., Li M., Li W., Gu X., Wang Z., Pi L., Xu Y., Zhou H., Zhang B., Deng Q., Wang Y., Huang P., Zhang L., Gu X. Integrin α2 gene polymorphism is a risk factor of coronary artery lesions in Chinese children with Kawasaki disease // Pediatric rheumatology online journal. - 2021. - № 1. – P. 12.

37. Щербак С. Г., Камилова Т. А., Лисовец Д. Г., Сарана А. М., Юркина Е. А., Юркин А. К., Макаренко С. В., Кленкова Н. А., Анисенкова А. Ю., Сахаровская А. А.. Глотов О. С., Глотов А. С., Максимов А. Г. Генетический полиморфизм системы гемостаза (обзор литературы) // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. – 2015. - №4. – С. 66-75.

38. Kathiresan S., Yang Q., Larson M. G., Camargo A. L., Tofler G. H., Hirschhorn J. N., Gabriel S. B., O'Donnell C. J. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2006. - №26 (6). – P. 1405–1412.

ГИГИЕНА И ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА



Макс Петтенкофер (1818–1901)

«Насколько человек владеет личной гигиеной – таков его путь по жизни и такова его скорость к смерти»

ЧТО ВЛИЯЕТ НА СОХРАНЕНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ?

А.С. Агиенко, И.Л. Строкольская, Д.П. Цыганкова, Г.В. Артамонова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Леонида Барбараша, д. 6, г. Кемерово, 650002, Россия

Отношение к здоровью, информированность о принципах здорового образа жизни, самосохранительное поведение, приверженность рекомендациям и другое – нетрадиционные факторы сохранения здоровья населения.

Цель: оценить вклад нетрадиционных факторов в сохранение здоровья и сопоставить их с клинико-инструментальными данными респондентов.

Материалы и методы. Исследование проведено в 2 этапа**:** на первом (2016 г, n=1600) и втором (2019 г, n=991) проведено анкетирование о нетрадиционных факторах сохранения здоровья, клинико-инструментальное обследование включало оценку традиционных факторов сердечно-сосудистого риска. По результатам второго этапа выделены 3 группы, в зависимости от состояния здоровья: относительно-здоровые, заболевшие за период наблюдения, исходно-болеющие.

Результаты. Наибольший вклад в сохранение сердечно-сосудистого здоровья внесли факторы медицинской профилактики – профилактические рекомендации и обсуждение сердечно-сосудистых рисков с врачом (ранг значимости предикторов 100 и 78, соответственно), фактор ответственного отношения к здоровью – изменение образа жизни (92), и фактор информированности – информированность о значимости высокого давления (53). При сопоставлении нетрадиционных факторов сохранения здоровья с клинико-инструментальными данными респондентов наибольший ранг значимости имели ожирение, систолическое артериальное давление и фактор ответственного отношения к здоровью (100, 78 и 56 соответственно). Среди групп исследования в большей степени был выражен фактор медицинской профилактики (59,3% охвачено профилактическими рекомендациями, $p<0,001$) и фактор ответственного отношения к здоровью (54,7% изменили образ жизни, $p=0,019$) среди заболевших за период наблюдения.

Заключение. Факторы медицинской профилактики и ответственного отношения к здоровью имеют лидирующую позицию в структуре факторов сохранения здоровья населения и наибольшую значимость среди недавно заболевших лиц.

АССОЦИАЦИИ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ ОТНОШЕНИЯ К ЗДОРОВЬЮ И ЕГО САМООЦЕНКИ С ФАКТОРАМИ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ЭКСПЕДИЦИОННО-ВАХТОВОЙ ФОРМЕ ТРУДА В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ

А.М. Акимов

Введение

Мир вступил в эпоху, когда стресс играет определяющую роль в развитии хронических неинфекционных заболеваний – продемонстрированы исследования, где до 90% всех случаев сердечно-сосудистых заболеваний могут быть связаны со стрессом [1–5]. Ганс Селье определял стресс как «неспецифический ответ организма на любое предъявляемое ему требование». По мнению Г. Селье, на организм человека стресс оказывает как негативное, так и позитивное воздействие, последнее он связывал с тренирующим компонентом стресса [6]. Научные исследования, проведенные в Арктическом регионе, продемонстрировали, что при работе экспедиционно-вахтовым методом в экстремальных условиях, которая предполагает наличие выраженной нагрузки на экологические системы, происходит преждевременное истощение адаптационных ресурсов человеческого организма [7, 8]. По результатам многих исследований, касающихся освоения человеком Арктики, психологический стресс является немаловажным фактором при работе экспедиционно-вахтовым методом [9–13]. По данным В.П. Казначеева, при работе в режиме экспедиционной вахты в условиях Арктики часто развивается «полярный синдром» или «синдром психоэмоционального напряжения» [13]. Между тем, поскольку одним из важнейших социально-психологических свойств личности является отношение к своему здоровью и его самооценка, в контексте с этим наличие стресса при работе экспедиционной вахтой в условиях Арктического региона приобретает особое значение и не может не влиять негативно на ценностные характеристики здоровья [14–16]. Результаты социологических исследований В.В. Маркина и А.Н. Силина продемонстрировали явные свидетельства снижения значимости ценностных ориентаций у работников нефтегазодобывающего комплекса Западной Сибири после длительной работы экспедиционно-вахтовым методом при высоких стрессовых нагрузках в семье и на рабочем месте [16]. В то же время, для эффективного управления здоровьем работников нефтегазодобывающего комплекса в Арктическом регионе главным условием является осознанное желание самих «вахтовиков» изменить стереотипы поведения. Отношение к своему здоровью и его самооценка являются надежными индикаторами таких устремлений «вахтовиков» [10].

Следовательно, рассмотренные в данном исследовании маркеры отношения к здоровью и его самооценки среди работников, занятых экспедиционной вахтой при наличии стресса на работе и в семье, будут являться научной основой для разработки механизмов управления здоровьем на промышленных предприятиях Арктического региона.

Целью исследования явилось установление популяционных закономерностей распространенности факторов хронического социального стресса (стресса в семье, стресса на работе) и их ассоциаций с некоторыми параметрами отношения к здоровью и его самооценки у мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики.

Материал и методы

Кросс–секционное исследование было проведено среди работающих экспедиционно-вахтовым методом на промышленном предприятии ЕВРАКОР в арктических широтах Тюменского региона. Репрезентативная выборка формировалась с использованием стандартной методики «случайных чисел» (750 лиц мужского пола 25 -54 лет, отклик на исследование составил 82,4%).

Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Тюменского кардиологического научного центра. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Оценка стажа работы экспедиционно-вахтовым методом в условиях Арктики проводилась по трем параметрам 1) 3 года и менее; 2) 4–9 лет; 3) 10 и более лет.

Для определения стресса в семье и на работе, отношения к своему здоровью и его самооценки применялась анкета ВОЗ MONICA-MOPSY [17]. Статистический анализ проводился с использованием программного пакета IBM СТАТИСТИКА 21.0. Для сравнения показателей между скринингами использовались соответствующие возрастные группы. Для проверки статистической значимости различий между группами применялся критерий «хи-квадрат» (χ^2) Пирсона. При парных сравнениях средних величин в четырех и более независимых группах, для исключения проблемы множественных сравнений, применялась поправка Бонферрони. Для проведения корректного сравнительного анализа с данными российских и мировых исследований была проведена стандартизация по возрасту изучаемых параметров с применением прямого метода стандартизации. Во всех процедурах статистического анализа рассчитывался достигнутый уровень значимости (p), а критический уровень значимости в исследовании принимался равным 0,05. В тех случаях, где число участников в какой-либо подгруппе было меньше 10 или в точности равно 0, сравнения были пересчитаны точным тестом Фишера.

Результаты

При анализе самооценки здоровья среди лиц, работающих экспедиционной вахтой в Арктическом регионе, были получены статистически значимые различия в группах с длительным стажем работы по показателю «здоров», где определялась наиболее низкая самооценка при наличии стресса на работе. Статистически значимые различия в отношении ответа «не совсем здоров» были получены у «вахтовиков» со стажем работы 4–9 лет с более высоким показателем при наличии стресса на работе. Отсутствие жалоб на здоровье также определялись в группах с длительным стажем, существенно реже у лиц с наличием стресса на работе (рис. 1).

Желание заботиться больше о своем здоровье существенно чаще было выражено при отсутствии стресса на работе у «вахтовиков» со стажем 4–9 лет и 3 года и менее. При наличии стресса на работе при плохом самочувствии «вахтовики» со стажем 4–9 лет обращались к врачу существенно реже, чем при отсутствии стресса (15,6% vs 34,8%, p=0,0183). При стаже работы экспедиционно-вахтовым методом 3 года и менее и 4–9 лет среди лиц с наличием стресса на работе выявлялось существенно меньше тех, кто определенно признавал пользу от профилактической проверки здоровья (рис. 2).

При анализе самооценки здоровья среди лиц, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктического региона, было показано, что независимо от стажа работы экспедиционно-вахтовым методом наиболее низкая самооценка здоровья имела место при наличии стресса в семье. Так, статистически значимые различия в отношении ответа «совершенно здоров» были получены у «вахтовиков» со стажем работы 4–9 лет с более высоким показателем в группе лиц с отсутствием стресса в семье. По ответу «здоровье хорошее» существенное увеличение интервьюируемых наблюдалось при отсутствии стресса в семье относительно лиц с наличием такового независимо от стаже работы экспедиционной вахтой. Аналогичная ситуация для групп со стажем более трех лет сложилась и в отношении ответа «здоров». В то же время, при стаже работы экспедиционной вахтой три года и менее установлен более низкий показатель ответа «здоров» при отсутствии стресса в семье относительно лиц с наличием стресса. Также более низкий показатель ответа «не совсем здоров» при отсутствии стресса в семье получен у «вахтовиков» со стажем работы 4–9 лет. Статистически значимые различия по жалобам на здоровье также получены существенно чаще у лиц с наличием стресса в семье независимо от стажа работы экспедиционной вахтой (рис. 3).

Наибольшую заботу о своем здоровье проявляли лица с отсутствием стресса в семье в обеих группах длительной работы экспедиционно-вахтовым методом в условиях Арктики. В то же время, желание заботиться больше о своем здоровье превалировало при наличии стресса в семье в тех же группах длительной работы экспедиционно-вахтовым методом. При наличии

стресса в семье превалировало и мнение о явно недостаточной заботе о своем здоровье в группе со стажем экспедиционной вахты 10 и более лет (рис. 4).

При наличии стресса в семье при плохом самочувствии у «вахтовиков» отмечалась меньшая ответственность за свое здоровье – они продолжали работать существенно чаще, чем при отсутствии стресса. Во всех группах, независимо от стажа работы экспедиционной вахтой, при наличии стресса в семье обращалось к врачу существенно меньше работников, чем при отсутствии такового. При фиксации температуры или симптомов гриппа, независимо от стажа работы, «вахтовики» с наличием стресса в семье существенно чаще продолжали работать в обычном режиме, и то же время, существенно реже оставались дома до достижения хорошего самочувствия. В группах со стажем 4–9 лет и 10 лет и более существенно большая доля «вахтовиков» с отсутствием стресса в семье оставалась дома и делала все возможное для возвращения на работу (рис. 5).

Обсуждение

Исследования показали, что Арктика имеет множество экологических и социальных проблем, которые негативно влияют на здоровье человека. При анализе основных характеристик влияния вахтового режима труда на личность как отечественные, так и зарубежные социальные психологи показали появление у «ваховиков» симптомов эмоционального «выгорания». С большой вероятностью, это приводит к снижению производительноститруда работающих вахтовым методом при обслуживании нефтегазодобывающего комплекса в северных регионах РФ [10, 11]. Что касается отношения «вахтовиков» к своему здоровью, вероятно, можно говорить об однонаправленной тенденции к снижению его самооценки за последние десятилетия. Наиболее негативная ситуация выявляется в экстремальных условиях работы северной вахтой. Такие данные приводят А.Н. Силин и В.А. Юдашкин по существенному снижению самооценки здоровья в Арктике [9]. В то же время, управление здоровьем «вахтовиков», представляющих собой основной экономический потенциал для развития Арктики, возможно, прежде всего, путем воздействия на факторы хронического социального стресса, тогда как маркерами этого процесса являются ценностные характеристики здоровья (параметры отношения к здоровью и его самооценка). Вследствие этого, представленные результаты могут служить научной основой для создания социальной модели управления здоровьем изучаемого контингента и оценки ее эффективности.

Установленные в настоящем исследовании закономерности к снижению параметров отношения к своему здоровью у «вахтовиков» с установленным стрессом в семье выявляют глубинную негативную ситуацию при мобильном характере работы в Арктической зоне. Эта ситуация усугубляется при увеличении стажа работы экспедиционной вахтой, что безусловно

указывает на необходимость ее дальнейшего изучения и принятия взвешенного решения по управлению здоровьем «вахтовиков» в условиях Арктики. Путем изучения ценностных характеристик отношения к здоровью может быть определена готовность работников к участию в профилактических программах, особенно в группах высокого риска – при наличии факторов хронического социального стресса [14–16].

Таким образом, результаты по определению ассоциаций стресса на рабочем месте и в семье с параметрами отношения к здоровью, его самооценки среди работников нефтегазодобывающего комплекса, в зависимости от стажа работы экспедиционно-вахтовым методом, необходимо использовать как весомую часть комплексной социально ориентированной профилактической программы на промышленных предприятиях Арктического региона.

Выводы

1. При стаже работы экспедиционно-вахтовым методом менее десяти лет и наличии стресса на рабочем месте у работников нефтегазодобывающего комплекса в условиях Арктики определено меньшее стремление к профилактике заболеваний и заботы о своем здоровье.
2. В группах с длительным стажем работы экспедиционной вахтой в условиях Арктики при наличии стресса на работе установлена тенденция к снижению самооценки и низкая ответственность за свое здоровье, при наличии стресса в семье – снижение заботы о своем здоровье.

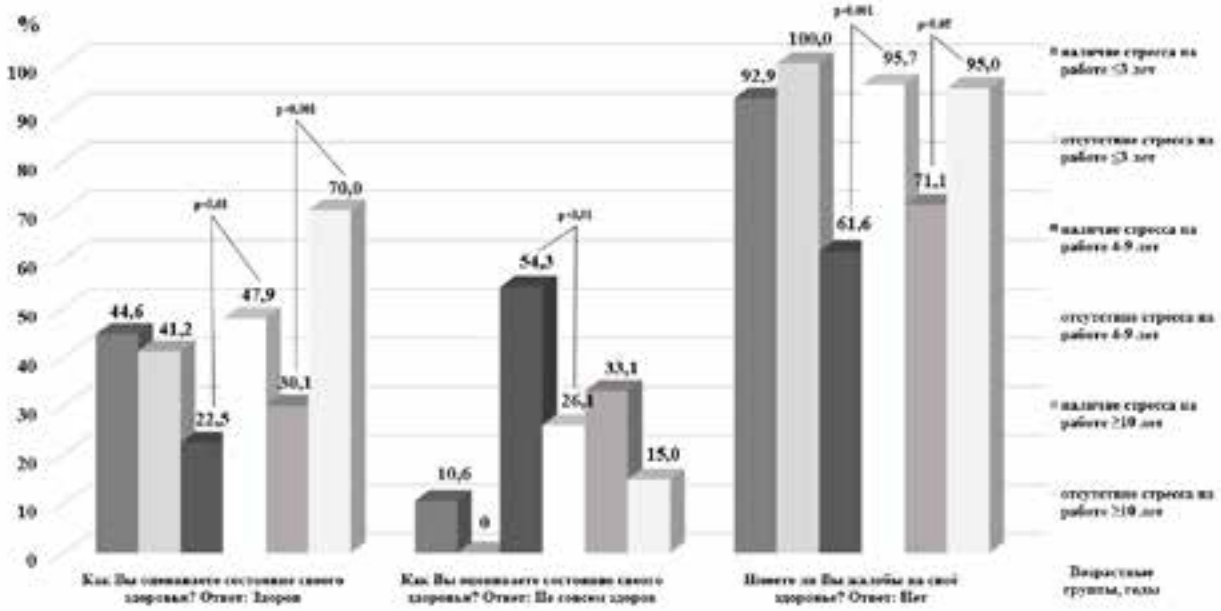


Рисунок 1. Ассоциации самооценки здоровья со стрессом на работе среди мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики

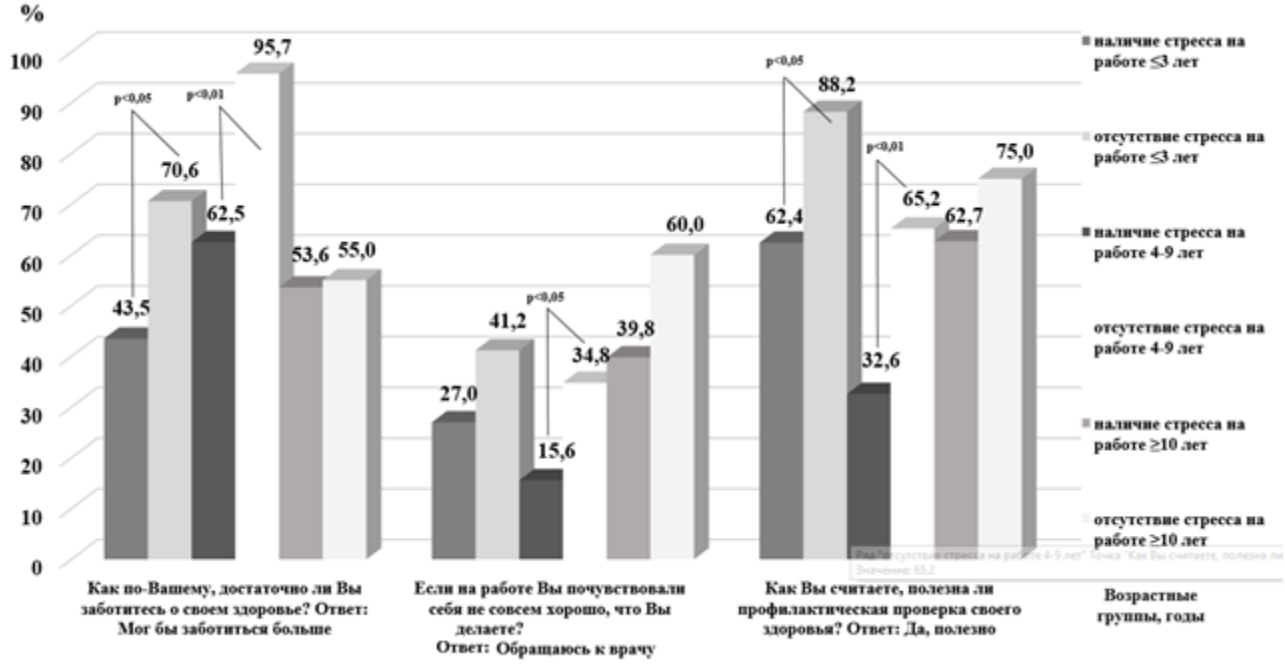


Рисунок 2. Ассоциации параметров отношения к здоровью со стрессом на работе среди мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики, %

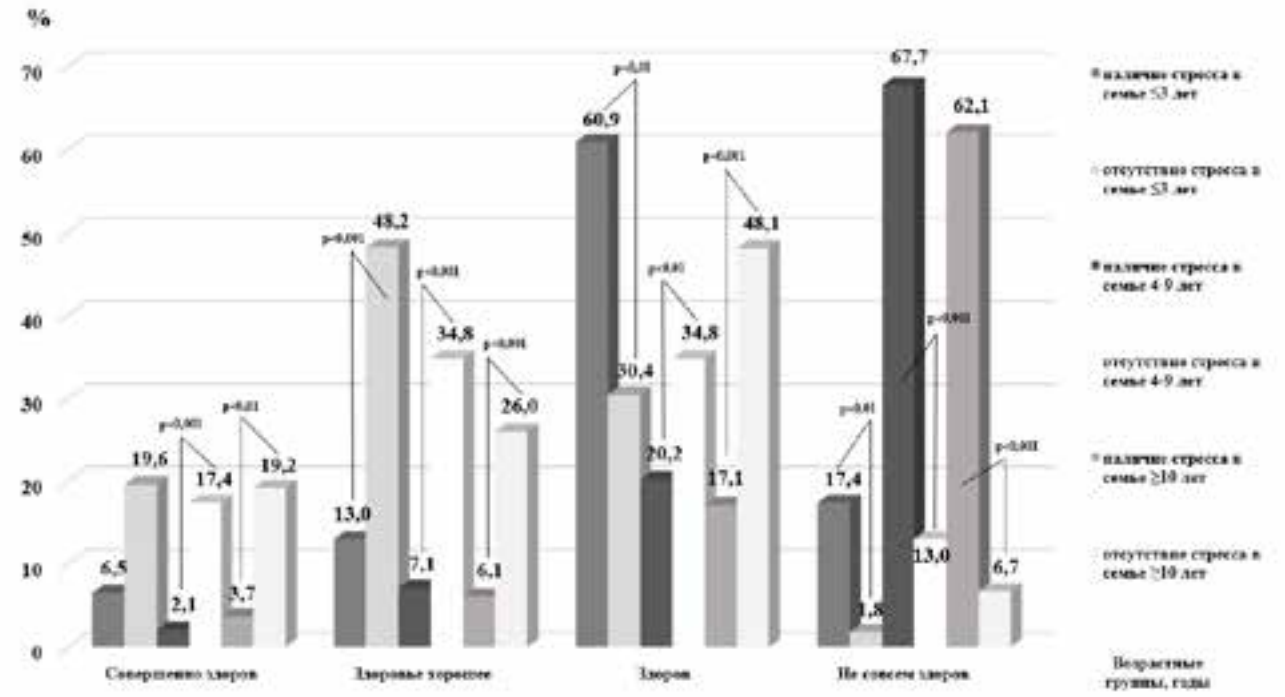


Рисунок 3. Ассоциации самооценки здоровья со стрессом в семье среди мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики, %

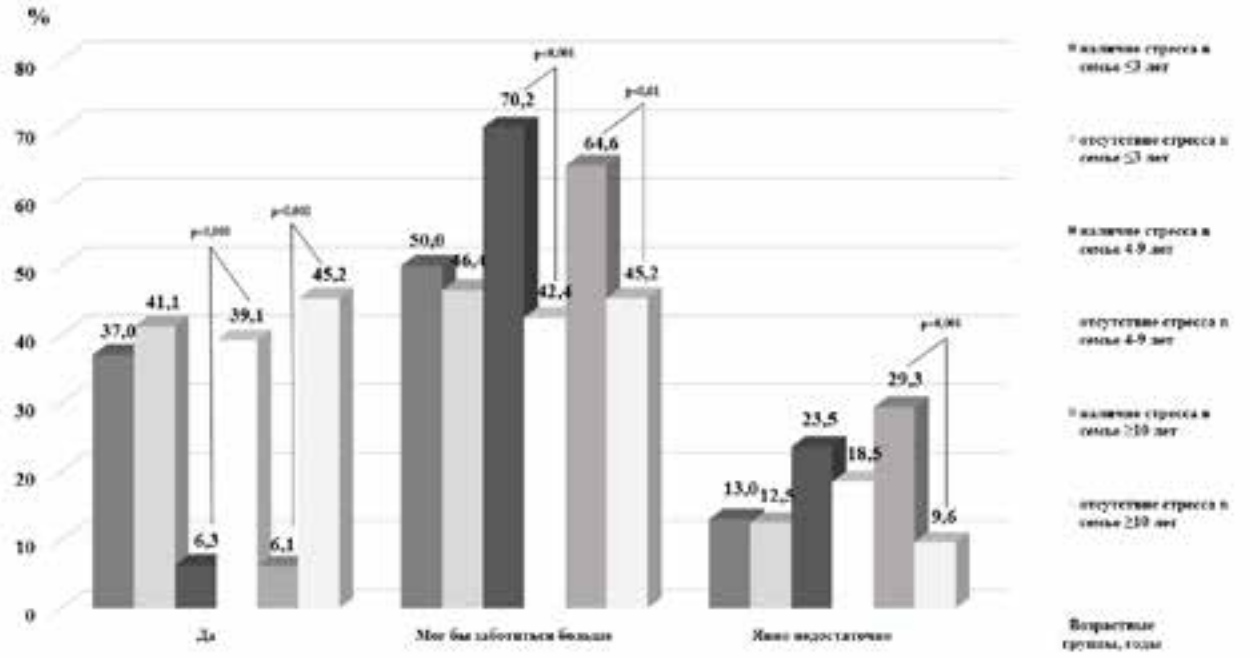


Рисунок 4. Ассоциации параметров заботы о своем здоровье со стрессом в семье среди мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики, %

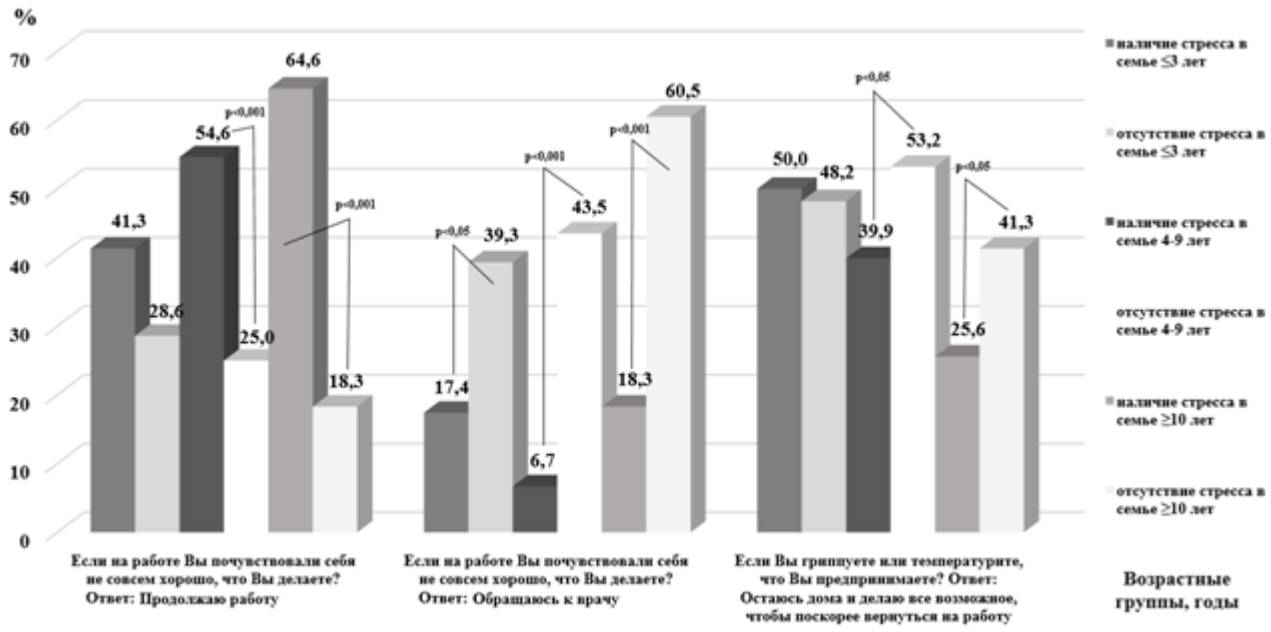


Рисунок 5. Ассоциации параметров отношения к здоровью со стрессом в семье среди мужчин, занятых экспедиционно-вахтовой формой труда в условиях Арктики, %

ЛИТЕРАТУРА

1. Fioranelli M., Bottaccioli A.G., Bottaccioli F., et al. Stress and Inflammation in Coronary Artery Disease: A Review Psychoneuroendocrineimmunology-Based // Front Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 20–31.
2. Погосова Н.В., Бойцов С.А., Оганов Р.Г. и др. Клинико-эпидемиологическая программа изучения психосоциальных факторов риска в кардиологической практике у больных артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца (КОМЕТА): первые результаты российского многоцентрового исследования // Кардиология. – 2019. – № 8. – С. 54–63.
3. Yao B.C., Meng L.B, Hao M.L., et al. Chronic stress: a critical risk factor for atherosclerosis // J. Int. Med. Res. – 2019. – Vol. 47, № 4. – P. 1429–1440.
4. Chinnaiyan K. Role of stress management for cardiovascular disease prevention // Curr Opin Cardiol. – 2019. – Vol. 34, № 5. – P. 531–535.
5. Гафаров В.В., Гагулин И.В., Гафарова А.В. и др. Психосоциальные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний: гендерные различия и 22-летняя динамика среди населения Сибири (программы ВОЗ "MONICA-ПСИХОСОЦИАЛЬНАЯ", HAPIEE) // Терапевтический архив. – 2020. – № 1 (92). – С. 15–24.
6. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. Пер. с англ. – М.: Медгиз. 1960. – 278 с.
7. Harper S.L., Wright C., Masina S., Coggins S. Climate change, water, and human health research in the Arctic // Water Security. – 2020. – Vol. 10. – P. 100062.
8. Гакова Е.И., Гакова А.А., Бессонова М.И. и др. Основные факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у мужчин, работающих вахтовым методом на Крайнем Севере // Профилактическая медицина. 2022. – № 5 (11). – С. 65–71.
9. Силин А.Н., Юдашкин В.А. Вахтовый труд как социальный феномен: место в пространственном развитии регионов и проблемы нормативно-правового регулирования // Вестник Тюменского государственного университета. – 2020. – № 4 (24). – 95–109.
10. Здоровьесбережение участников освоения Арктического нефтегазового региона / А.М. Акимов, О.М. Барбаков, М.Л. Белоножко и др.; отв. ред. А.Н. Силин, В.В. Маркин. – Тюмень: ТИУ, 2019. – 171 с.
11. Кривощеков С.Г., Охотников С.В. Производственная миграция и здоровье человека на Севере. – Новосибирск: СО РАМН, 2000. – 118 с.
12. Акимов А.М., Новоселов А.В., Лебедев Е.В. и др. Некоторые факторы хронического социального стресса, сопутствующие развитию сердечно-сосудистых заболеваний // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. – 2023. – № 11 (37). – 45–53.
13. Казначеев В.П. Клинические аспекты полярной медицины. М.: Медицина, 1986. – 217 с.
14. Акимов А.М. Некоторые факторы хронического социального стресса у мужчин, занятых

экспедиционно-вахтовой формой труда на арктических территориях Тюменского региона (пилотное исследование) // Сибирский научный медицинский журнал. – 2023. – № 43 (3). – С. 104–112.

15. Каюмова М.М., Бессонова М.И., Гафаров В.В. и др. Ассоциации депрессии с параметрами отношения к медицинской помощи в открытой городской популяции, гендерный аспект // Врач. – 2023. – № 34 (8). – С. 48–53.

16. Маркин В.В., Силин А.Н. Человеческий капитал регионов российской Арктики: социологические очерки / под ред. В.А. Ильина. – Вологда: Вологодский научный центр РАН, 2021. – 340 с.

17. Tunstall-Pedoe H., Kuulasmaa K., Tolonen H., et al. with 64 other contributors for The WHO MONICA Project. MONICA Monograph and Multimedia Sourcebook. World's largest study of heart disease, stroke, risk factors, and population trends 1979–2002. Edited by H. Tunstall-Pedoe. WHO: Geneve; on-line publication. ISBN9241562234. Available for: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42597/1/9241562234.pdf

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИВЕРЖЕННОСТИ К ТЕРАПИИ И ТЕХНИКИ ИНГАЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Ф.М. Алиева, Ш. Соперна, Е.М. Рабжаева, И.В. Озерская

ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), РФ, г. Москва

Бронхиальная астма (БА) – самое частое хроническое заболевание детского возраста. У значительной части детей с БА не удается достичь контроля симптомов, несмотря на адекватно назначенную терапию, в том числе из-за низкой приверженности к терапии [1]. Низкая приверженность к лечению у детей с БА является существенной проблемой, составляя в среднем всего 50% [1, 4, 5, 6, 7].

Приверженность к терапии является ключевым условием ее эффективности [2]. В последнее время все большее внимание уделяется важности выявления низкой приверженности к лечению БА и разработке мер, направленных на повышение комплаентности.

При оценке приверженности к лечению больных БА необходимо учитывать особенности терапии, так как большинство препаратов вводятся ингаляционно. Правильная техника ингаляции необходима для доставки оптимального количества препарата в нижние дыхательные пути и реализации эффекта [2]. Высокая приверженность к базисной терапии и правильная техника ингаляции являются важными факторами успешного контроля над симптомами заболевания, повышают качество жизни, снижают риск обострений и развития осложнений.

Цель - оценить уровень приверженности к терапии и технику ингаляции у детей и подростков с БА.

Пациенты и методы. В исследование включено 49 детей с БА, госпитализированных в отделение пульмонологии Сеченовского центра материнства и детства. Возраст пациентов составил (здесь и далее - медиана [интерквартильный размах]) 13[12;16] лет, 76% мальчики, 24% девочки. Все включенные в исследование пациенты получали базисную терапию не менее 1 месяца. Для оценки контроля симптомов использовался опросник АСТ (для детей ≥12 лет) и АСТ-С (для детей младше 12 лет). Приверженность к терапии оценивалась по разработанному нами опроснику, самооценка приверженности к терапии проводилась по визуально-аналоговой шкале (0 – не выполняет рекомендации врача, 10 – полностью и точно выполняет рекомендации врача). Техника ингаляции оценивалась по чек-листам, составленным в соответствии с инструкциями по использованию ингаляторов, при выполнении ингаляции пациентом.

Результаты. Уровень контроля симптомов астмы по данным опросника АСТ у большинства детей был ниже оптимального: медиана составила 20[16;22] баллов. Самостоятельная оценка пациентом свой приверженности к терапии по визуально аналоговой

шкале (ВАШ) была достаточно высока – 8[7,5;9] баллов. Однако при более детальной оценке с использованием разработанного нами опросника, состоящего из 9 вопросов, оказалось, что в действительности приверженность, очевидно, ниже.

Так, 68% пациентов периодически забывают делать ингаляции, при этом 8-10% пациентов забывают часто. 52% пациентов прекращают ингаляции базисной терапии без консультации с врачом, если чувствуют себя хорошо, а 24% пациентов делают это часто или всегда (Рис.1).

Рис.1. Распределение ответов пациентов на вопросы №1 и №3. опросника по определению уровня приверженности к терапии БА

Было выявлено, что 72% пациентов не хотят делать ингаляции каждый день, а у пятой части пациентов это чувство возникает часто или всегда. Из опрошенных пациентов 10% считают, что назначенная терапия им не помогает. (Рис.2)

Рис.2. Распределение ответов пациентов на вопросы №4 и №8. опросника по определению уровня приверженности к терапии БА

Подавляющее большинство пациентов (98%) заявляют, что хорошо знают, как правильно пользоваться их основным ингалятором, знают правильную технику ингаляции, при этом у 20% пациентов периодически возникают сложности с использованием ингалятора (Рис.3).

Рис.3. Распределение ответов пациентов на вопросы №5 и №6 опросника по определению уровня приверженности к терапии БА

При использовании дозирующего аэрозольного ингалятора (ДАИ) техника ингаляции выполнялась правильно по 69 [62; 77]% пунктов чек-листа, при использовании турбухалера – по 80[70; 90]% пунктов, при использовании мультидиска – по 100[91; 100]% пунктов.

При использовании ДАИ выявлены следующие ошибки:

- 82% детей не знают, что делать с новым ингалятором для его активации;
- 41% детей не встряхивают ингалятор перед использованием;
- 27% детей не делают медленный и полный выдох перед началом ингаляции;
- 12% детей не задерживают дыхание после ингаляции;
- 29% детей не полощут рот после ингаляции гормонов.

При использовании турбухалера выявлены следующие ошибки:

- 35% детей не знают, что перед использованием турбухалера нужно выдохнуть в сторону, но не через мундштук;
- 23% детей не задерживают дыхание после ингаляции;
- 19% детей не полощут рот водой после ингаляции гормонов;
- 31% детей не знают, как определить оставшееся количество доз в турбухалере.

При использовании мультидиска выявлены следующие ошибки:

- 33% детей не знают, что перед ингаляцией нужно выдохнуть в сторону, но не в ингалятор;
- 33% детей не полощут рот после ингаляции гормонов.

Заключение

У детей и подростков с БА наблюдается недостаточный уровень приверженности терапии и контроля над симптомами заболевания. Даже при длительном применении ингаляторов нередко наблюдается нарушение техники ингаляции, что чаще отмечалось при использовании дозированных аэрозольных ингаляторов. Необходимы меры по повышению приверженности к терапии у детей и подростков с БА, в том числе с использованием современных цифровых решений (например, приложения для смартфона). Особое внимание следует уделять подросткам с БА, поскольку у них даже чаще, чем у детей младшего возраста, наблюдается низкая приверженность к лечению [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Pearce CJ, Fleming L. Adherence to medication in children and adolescents with asthma: methods for monitoring and intervention. Expert Rev Clin Immunol. 2018 Dec;14(12):1055-1063. doi: 10.1080/1744666X.2018.1532290. Epub 2018 Oct 15. PMID: 30286679.
2. Vrijens B, Dima AL, Van Ganse E, van Boven JF, Eakin MN, Foster JM, de Bruin M, Chisholm A, Price D. What We Mean When We Talk About Adherence in Respiratory Medicine. J Allergy Clin Immunol Pract. 2016 Sep-Oct;4(5):802-12. doi: 10.1016/j.jaip.2016.05.019. PMID: 27587314.
3. Marckmann M, Hermansen MN, Hansen KS, Chawes BL. Assessment of adherence to asthma controllers in children and adolescents. Pediatr Allergy Immunol. 2020 Nov;31(8):930-937. doi: 10.1111/pai.13312. Epub 2020 Jul 22. PMID: 32574387.
4. Dhruve H, Jackson DJ. Assessing adherence to inhaled therapies in asthma and the emergence of electronic monitoring devices. Eur Respir Rev. 2022 May 25;31(164):210271. doi: 10.1183/16000617.0271-2021. PMID: 35613744; PMCID: PMC9488666.
5. 5. Morton, R. W. et al. STAAR: A randomised controlled trial of electronic adherence monitoring with reminder alarms and feedback to improve clinical outcomes for children with asthma. Thorax 72, 347–354 (2017).
6. 6. Desager, K., Vermeulen, F. & Bodart, E. Adherence to asthma treatment in childhood and adolescence–a narrative literature review. Acta Clinica Belgica: International Journal of Clinical and Laboratory Medicine 73, 348–355 (2018).
7. 7. Burgess, S. W., Sly, P. D. & Devadason, S. G. Providing feedback on adherence increases use of preventive medication by asthmatic children. Journal of Asthma 47, 198–201 (2010).

ЦИФРОВЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРПОРАТИВНЫХ ПРОГРАММ УКРЕПЛЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАБОТНИКОВ

А.А. Анциферова, А.В. Концевая, О.М. Драпкина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3, 101000

Приверженность здоровому образу жизни как важнейшему фактору формирования здоровья на современном этапе социально-экономического развития страны становится не просто актуальной, а чрезвычайно необходимой задачей. В 2019 году доля граждан, ведущих здоровый образ жизни в стране составила 12% (в результате пандемии COVID-19 показатель упал до 7%, а за 2023 год произошел восстановительный рост до 9%) [1].

Одной из стратегических целей развития Российской Федерации является увеличение продолжительности здоровой жизни. Достижение данной цели является сложной задачей, одним из механизмов решения которой согласно Федеральному проекту «Укрепление общественного здоровья» должен стать охват корпоративными программами укрепления здоровья 33,2 млн. работников [2]. Рабочее место является оптимальной организационной моделью внедрения укрепления здоровья, в том числе в формате программ, направленных на профилактику хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ), которые являются лидирующими причинами смертности и инвалидизации трудоспособного населения [3].

В рамках реализации федерального проекта «Укрепление общественного здоровья» [2] национального проекта «Демография» [4], в части разработки и реализации корпоративных программ укрепления здоровья, ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ под руководством Министерства здравоохранения Российской Федерации разработаны модельные программы «Укрепление здоровья работающих» [5] и библиотека корпоративных программ по укреплению здоровья работающих граждан. Для методического сопровождения процесса разработки корпоративных программ укрепления здоровья работников и широкого их внедрения на территории Российской Федерации ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России разработал специальный инструмент – цифровую платформу Атрия, которая доступна по ссылки сети Интернет https://atriya.gnicpm.ru/ (рисунок 1).

Рисунок 1. Стартовая страница платформы Атрия

Платформа Атрия является методологическим цифровым инструментом для внедрения целевых корпоративных программ как для специалистов по укреплению общественного здоровья региона и муниципалитета, так и для представителей работодателей, ответственных за формирование корпоративных программ [7,8]. Платформа Атрия состоит из открытой и закрытой части (рисунок 2). Открытая часть доступна любому пользователю сети интернет, в ней представлена география исследования и рекомендации по внедрению корпоративных программ укрепления здоровья работников. Доступ в закрытую часть платформы Атрия осуществляется по паролю, к закрытой части относятся: опросник для работника, опросник для работодателя, результаты опроса работников организации, результаты опроса работников на региональном уровне и калькулятор сбережений на рабочем месте.

Рисунок 2. Структура платформы Атрия

Опросник для работодателя направлен на общую оценку ситуации, понимание приоритетов и возможностей в реализации программ, по укреплению здоровья работников. В обобщенном виде результаты опроса работодателей используются для методической работы по доработке модельных корпоративных программ, в рамках обучающих циклов по планированию и реализации корпоративных программ.

Опросник для работника используется для оценки состояния здоровья работников, определении потребностей в реализации корпоративной программы на этапах планирования корпоративной программы, а также для оценки ряда целевых индикаторов эффективности программы. Одно из преимуществ платформы Атрия – это возможность моментально и автоматически генерировать результаты опроса работников организации [6]. По завершению опроса каждом работнику генерируются персональные рекомендации по имеющимся у него факторам риска и уровню грамотности в вопросах здоровья. Работодателю доступны результаты опроса работников его организации в агрегированном виде, которые представлены с графическим модулем, также их можно выгрузить в формате Excel на персональный компьютер. Результаты опроса используются на региональном уровне, Центрами общественного здоровья и медицинской профилактики, и на федеральном уровне для методической работы.

Многие работодатели уже используют платформу Атрия для сопровождения процесса разработки корпоративных программ укрепления здоровья, отмечая ее удобный, интуитивно понятный интерфейс и широкий диапазон функций [7]. Конечные пользователи платформы Атрия и направления использования результатов представлены в таблице 1. К

началу 2024 года на платформе Атрия зарегистрировано более 1400 работодателей и более 86 000 работников из 38 регионов Российской Федерации. К лидерам по зарегистрированным работниками относятся Забайкальский край (n=19659), Республика Башкортостан (n=8543), Воронежская область (n=7425), Челябинская область (n=4701) и Оренбургская область (n=3925).

Таблица 1. Направления использования результатов, полученных с платформы Атрия

Кто использует данные?	**Какие данные Атрии используются?**	**Для чего используются данные?**
Работник	Индивидуальные рекомендации по результатам опроса	• для коррекции образа жизни (статус курения, потребление алкоголя, потребление овощей и фруктов), • для определения уровня грамотности в вопросах здоровья.
Работодатель	Обобщенные результаты опроса работников Результаты расчета калькулятора	• для разработки наиболее приоритетной комплексной КП укрепления здоровья работников, ориентированной на потребности работников данной организации, • для расчета общих годовых потерь от абсентеизма, презентеизма и текучести кадров среди работников; • для прогнозирования общей годовой экономии для организации при условии реализации комплексной КП укрепления здоровья работников.
Региональные Центры общественного здоровья и медицинской профилактики	Обобщенные результаты опроса работников по отдельным предприятиям Обобщенные результаты опроса работников и работодателей по региону	• для оценки ситуации по регионам, • для обеспечения методологической поддержки и сопровождении в реализации КП укрепления здоровья работников в регионе.
Федеральный Минздрав, ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ, Федеральные ассоциации работодателей	Обобщенные результаты опроса работников и работодателей по отдельным предприятиям, регионам и стране в целом	• для разработки муниципальных программ, направленных на укрепление здоровья работников на региональном уровне, • для разработки паспорта здоровья организации.

Таким образом, необходимость укрепления здоровья на рабочем месте не вызывает сомнений, так как это эффективный подход к сохранению трудовых ресурсов и увеличению

продолжительности здоровой жизни в целом. Одним из эффективных подходов к профилактике ХНИЗ и продлению трудового потенциала является внедрение корпоративных программ укрепления здоровья на рабочих местах. Эксперты ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ призывают всех заинтересованных лиц использовать платформу Атрию для внедрения корпоративных программ укрепления здоровья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Росстат. ЕМИС. Доля граждан, ведущих здоровый образ жизни. Ссылка активна на 21.02.24. Rosstat. EMIS. Dolya grazhdan, vedushchih zdorovyj obraz zhizni. Accessed July 23, 2022. (In Russ.). https://www.fedstat.ru/indicator/59457

2. Федеральный проект «Укрепление общественного здоровья» от 1 августа 2018. Ссылка активна на 21.02.24. Federal project “Strengthening public health” dated August 1, 2018. Accessed February 21, 2024. (In Russ.). https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie/zozh

3. Концевая А.В., Мырзаматова А.О., Муканеева Д.К. и соавт. Экономический ущерб от основных хронических неинфекционных заболеваний в Российской Федерации в 2016 году. Профилактическая медицина. 2019;22(6):18-23. Kontsevaia AV, Myrzamatova AO, Mukaneeva DK, et al. The economic burden of main non-communicable diseases in the Russian Federation in 2016. Profilakticheskaya Meditsina. 2019;22(6):18-23. (In Russ.) https://doi.org/10.17116//profmed20192206118.

4. Паспорт Национального проекта «Демография» от 24 декабря 2018. Ссылка активна на 21.02.24. Passport of the National Project “Demography” dated December 24, 2018. Accessed February 21, 2024. (In Russ.). https://mintrud.gov.ru/ministry/programms/demography

5. Библиотека корпоративных программ «Укрепление здоровья работающих». 2019. Ссылка активна на 21.02.24. Biblioteka korporativnyh programm «Ukreplenie zdorov’ya rabotayushchih». 2019. Accessed February 21, 2024. (In Russ.). https://gnicpm.ru/public_health/korporativnye-programmy-ukrepleniya-zdorovya-rabotayushhih.html

6. Корпоративные модельные программы «Укрепление здоровья работающих», 2019. Ссылка активна на 21.02.24. Korporativnye model’nye programmy «Ukreplenie zdorov’ya rabotayushchih», 2019. Accessed February 21, 2024. (In Russ.).

https://gnicpm.ru/public_health/korporativnye-programmy-ukrepleniya-zdorovya-rabotayushhih.html

7. Анциферова А.А., Концевая А.В., Худяков М.Б. и соавт. Опыт внедрения корпоративных программ укрепления здоровья на рабочем месте в Российской Федерации: результаты опроса работодателей на платформе АТРИЯ. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(6):3266. Antsiferova A.A., Kontsevaya A.V., Khudyakov M.B. et al. Experience in implementing workplace wellbeing programs in Russia: results of a survey of employers on the ATRIA platform. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2022;21(6):3266. (In Russ.). https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3266

8. Анциферова А.А., Концевая А.В., Иванова Е.С., Никулин В.Н., Драпкина О.М. Корпоративные программы укрепления здоровья на рабочем месте: факторы трудового процесса и условия для ведения здорового образа жизни. Профилактическая медицина. 2022;25(10):61-70. Antsiferova AA, Kontsevaya AV, Ivanova ES, Nikulin VN, Drapkina OM. Workplace wellbeing programs: factors of the work process and maintaining a healthy lifestyle. Profilakticheskaya Meditsina. 2022;25(10):61-70. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/profmed20222510161

9. Укрепление общественного здоровья и медицинская профилактика. Ру- ководство для Центров общественного здоровья и медицинской профилактики. Под ред. Драпкиной О.М., Салагая О.О. 2021. Ссылка активна на 21.02.24. Ukreplenie obshchestvennogo zdorov'ya i medicinskaya profilaktika. Rukovodstvo dlya Centrov obshchestvennogo zdorov'ya i medicinskoj profilaktiki. Pod redakciej Drapkinoj O.M., Salagaya O.O. 2021. Accessed February 21, 2024. (In Russ.). https://gnicpm.ru/wp-content/uploads/2020/08/ukreplenie_obsh_zd.pdf

Информация об авторах

Анциферова Александра Александровна – научный сотрудник отдела укрепления общественного здоровья, ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ, 101990, Россия, г.Москва, Петроверигский пер., 10, стр.3. e-mail: antsiferovaaleksandra@mail.ru

https://orcid.org/0000-0003-2337-2723; eLibrary SPIN 7087-7198

Концевая Анна Васильевна – д.м.н., заместитель директора по научной и аналитической работе, ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ, 101990, Россия, г.Москва, Петроверигский пер., 10, стр.3, e-mail: akontsevaya@gnicpm.ru

https://orcid.org/0000-0003-2062-1536; eLibrary SPIN: 241921

Драпкина Оксана Михайловна — д.м.н., профессор, академик РАН, главный внештатный специалист по терапии и общемедицинской практике Минздрава России, директор ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ, Петроверигский пер., 10, стр.3, e-mail: ODrapkina@gnicpm.ru,

https://orcid.org/0000-0002-4453-8430; eLibrary SPIN: 4456-1297.

ИННОВАЦИОННАЯ СИСТЕМА САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ОБСТАНОВКИ ПРИ РАЗВИТИИ СЕТЕЙ СОТОВОЙ СВЯЗИ

О.В. Белая, А.И. Дремин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», г. Москва, Российская Федерация

Обоснование: Действующий подход контроля уровней ЭМП не позволяет в полной мере охарактеризовать реальные условия экспозиции человека ЭМП и оценить фактическую электромагнитную обстановку, которая претерпевает постоянные изменения как с внедрением новых устройств и технологий, так и со специфическими условиями эксплуатации различных типов источников, в особенности базовых станций сотовой связи. Особый интерес представляет исследование временной динамики уровней ЭМП, что составляет задачу длительного мониторинга электромагнитной обстановки.

Цель исследования*:* разработка системы контроля фактической электромагнитной обстановки и апробация критериев оценки ее временной динамики на примере инструментального контроля.

Материалы и методы*:* анализ статистических критериев фактической электромагнитной обстановки проводился по результатам стационарного мониторинга ЭМП, создаваемых базовыми станциями сетей сотовой связи поколений 2-4G на территории жилого микрорайона мегаполиса, с применением разработанного аппаратно-программного комплекса.

Результаты*:* статистический анализ данных круглосуточного мониторинга электромагнитной обстановки в течение года показал, что уровни ППЭ во второй точке принимали меньшие значения, но отличались большей вариабельностью в течение года по сравнению с первой, где были зарегистрированы наибольшие уровни, которые превышали значение 10 мкВт/см^2 с вероятностью менее 5% и 10% соответственно в первые и последующие 2 месяца исследования.

Заключение: предложенная система контроля электромагнитной обстановки основана на принципиальной взаимосвязи мощностных характеристик базовой станции и формируемыми ей уровнями ЭМП, возможности длительной регистрации и набора массивов данных с последующим их статистическим анализом как со стороны источника ЭМП, так и со стороны надзорных служб. Подход длительного мониторинга с анализом вероятностных параметров вариации уровней ЭМП представляется важным инструментом для совершенствования системы санитарно-эпидемиологического надзора, особенно в части прогнозирования вероятности превышения пороговых уровней.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Ключевые слова: электромагнитная обстановка, инструментальный контроль, система мониторинга, базовая станция, фактическая мощность.

IINNOVATION SANITARY AND EPIDEMIOLOGICAL CONTROL SYSTEM FOR ELECTROMAGNETIC ENVIRONMENT BY MOBILE NETWORKS DEVELOPMENT

O. V. Belaya, A. I. Dremin

FSBSI "Izmerov Research Institute of Occupational Health", Moscow, Russia

Background: the actual electromagnetic environment is changing with the new devices and technologies development and due to specific operation conditions of sources various types, especially of mobile network base stations. The current approach to EMF hygienic assessment and control does not provide to detail description of real human exposure to EMF. There is a particular interest to study the temporal dynamics of EMF levels as the task of long-term electromagnetic environment monitoring.

Aims: to develop a system for actual electromagnetic environment control and try out the criteria for time dynamics assessment by mean of instrumental methods.

Materials and methods: the actual electromagnetic environment statistical criteria analysis was carried out with the results of stationary monitoring of EMFs generated by 2-4G generation mobile network base stations on the territory of megapolis residential microdistrict; the developed hardware and software complex was used.

Results: statistical analysis of electromagnetic environment data throughout the year 24/7 monitoring showed that at the second measurement point power density values were lower, but were more variable throughout the year compared to the first measurement point. The highest EMF levels were recorded at the first measurement point, wherein the probability of 10 $\mu W/cm^2$ value exceeding was less than 5% and 10% in the first and subsequent 2 months of the study respectively.

Conclusions: the proposed system for electromagnetic environment monitoring is based on the fundamental relationship between the base station power characteristics and the generated EMF levels, the possibility of long-term data recording and collection with their subsequent statistical analysis both from the EMF source and from the supervisory services. The long-term monitoring approach with the analysis of EMF levels variation probabilistic parameters seems to be an important tool for improving the sanitary and epidemiological supervisory system, especially in terms of the of exceeding threshold levels prediction.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Keywords: electromagnetic environment, instrumental control, monitoring system, base station, actual power.

Обоснование. Беспроводные технологии передачи данных и связи за последние десятилетия стали основой для преобразования различных сфер экономики, интенсивного развития промышленности, благоустройства социальной жизни. Вместе с этим цифровизации современного общества сопутствует многообразие технических устройств и систем, которые являются источниками электромагнитных полей радиочастотного диапазона (ЭМП) – одного из неблагоприятных физических факторов для здоровья человека. Безопасные условия воздействия ЭМП на селитебных территориях и на рабочих местах регламентированы требованиями СанПиН 2.1.3685-21 [1], контроль за соблюдением которых является основной профилактической мерой при обеспечении защиты здоровья населения и работников от неблагоприятного влияния ЭМП. Согласно требованиям к размещению и эксплуатации радиоэлектронных средств (РЭС) при проведении инструментального контроля уровней ЭМП оборудование должно быть включено на максимальную проектную (заявленную) мощность излучения [2]. Таким образом, действующая в настоящая время система санитарно-эпидемиологического контроля уровней ЭМП, создаваемых РЭС, включает только разовые (при вводе в эксплуатацию и далее раз в три года) инструментальные измерения, которые проводятся при особом режиме работы источника (при максимальной мощности излучения). Кроме того, подобный подход к контролю уровней ЭМП предоставляет информацию только о соблюдении гигиенических нормативов, но не позволяют охарактеризовать реальные условия экспозиции человека ЭМП и оценить фактическую электромагнитную обстановку, которая претерпевает постоянные изменения как с внедрением новых устройств и технологий, так и со специфическими условиями эксплуатации различных типов РЭС. В особенности это актуально для систем сотовой связи, в которых уровни ЭМП, формируемые базовыми станциями и пропорциональные выходной мощности их радиопередатчиков, существенно изменяются со временем в зависимости от фактического количества пользователей в сети, объема передаваемого трафика, системы управления мощностными параметрами базовой станции. Особый интерес для оценки фактических условий воздействия ЭМП на организм человека представляет исследование временной динамики уровней ЭМП, что составляет задачу длительного мониторинга электромагнитной обстановки. В зарубежных исследованиях наряду с инструментальным мониторингом на основе измерений уровней ЭМП [3] широкое распространение получил косвенный подход мониторинга на основе измерений выходной мощности базовой станции сотовой связи с использованием контролеров и системы поддержки операций в сети [4-8]. Результаты подобных исследований показывают, что средние значения выходной мощности базовых станций как правило не превышают 50% от максимальной проектной мощности.

Цель исследования: разработать систему контроля фактической электромагнитной обстановки и апробировать критерии оценки ее временной динамики на примере инструментального контроля.

Материалы и методы. Предложенная система контроля фактической электромагнитной обстановки, создаваемой базовыми станциями сотовой связи, объединяет два способа оценки, как представлено на рисунке 1.

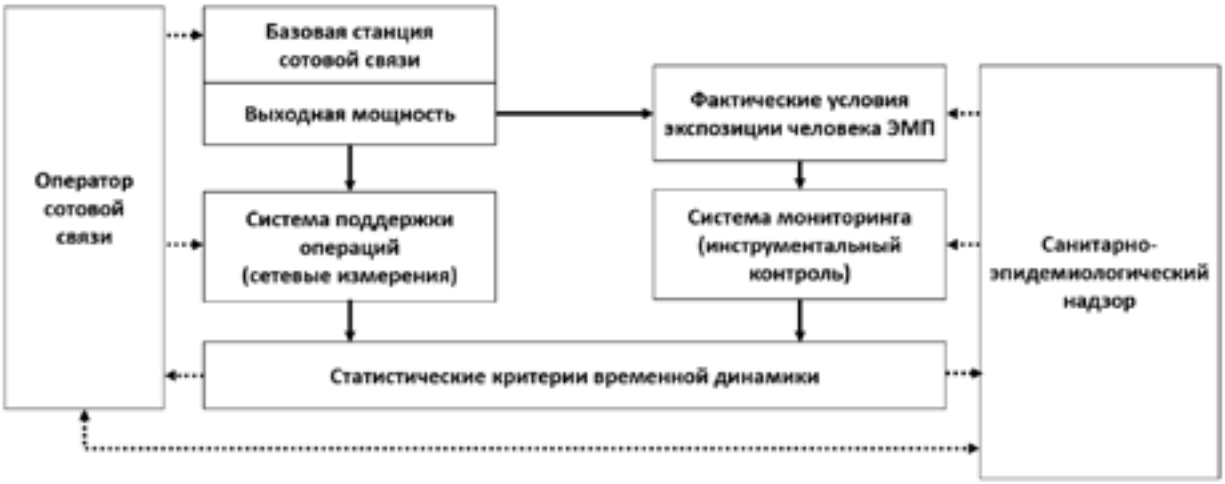


Рисунок 1. Схема системы контроля фактической электромагнитной обстановки

Первый способ основан на сетевых измерениях и реализуется на оборудовании оператора сотовой связи, с помощью которого собираются данные о выходной мощности радиопередатчика для соответствующих радиоканалов в течение заданного периода времени. На основе статистического анализа проводится оценка параметров временной динамики выходной мощности базовой станции, критериями которой обычно выступают среднее, медиана и 95-процентиль [3-7]. На основе рассчитанных показателей проводится контроль условий эксплуатации РЭС.

Второй способ оценки электромагнитной обстановки основан на инструментальном контроле уровней ЭМП в окружающей среде с помощью стационарных систем круглосуточного мониторинга. Статистический анализ массивов данных, полученных в результате длительной регистрации уровней ЭМП, предоставляет набор параметров, характеризующих реальные динамические условия экспозиции человека.

Анализ статистических критериев фактической электромагнитной обстановки проводился по результатам стационарного мониторинга ЭМП, создаваемых базовыми станциями сетей сотовой связи поколений 2-4G на территории жилого микрорайона мегаполиса. Регистрация уровней ЭМП осуществлялась круглосуточно в диапазоне частот 100 кГц – 7 ГГц с применением разработанного аппаратно-программного комплекса, включающего автономную станцию мониторинга Narda AMB-8059 (Narda Safety Test Solutions GmbH, Германия),

специализированное программное обеспечение, удаленное файловое хранилище. Измерительный датчик станции мониторинга размещался последовательно на двух различных площадках на крышах зданий ФГБНУ «НИИ МТ», для каждой из которых регистрация уровней ЭМП проводилась непрерывно в течение года. Анализ массивов данных значений плотности потока энергии (ППЭ), которые формировались с интервалом каждые 6 мин проводился по статистическим параметрам: среднее, максимальное и минимальное значения, 25-, 50-, 75, 90-и 95-процентили.

Результаты и обсуждение. В рамках пилотных исследований по круглосуточному мониторингу электромагнитной обстановки были собраны два массива данных по уровням ППЭ для каждой точки измерений. По каждому массиву проводилась оценка статистических параметров, характеризующих вариабельность уровней ЭМП как в течение суток, так в течение отдельных месяцев исследования. Сопоставление графиков суточной динамики уровней ЭМП, представленных на рисунке 2, показывает различия максимальных и средних значений ППЭ в отдельные 6-минутные интервалы регистрации в различных точках мониторинга.

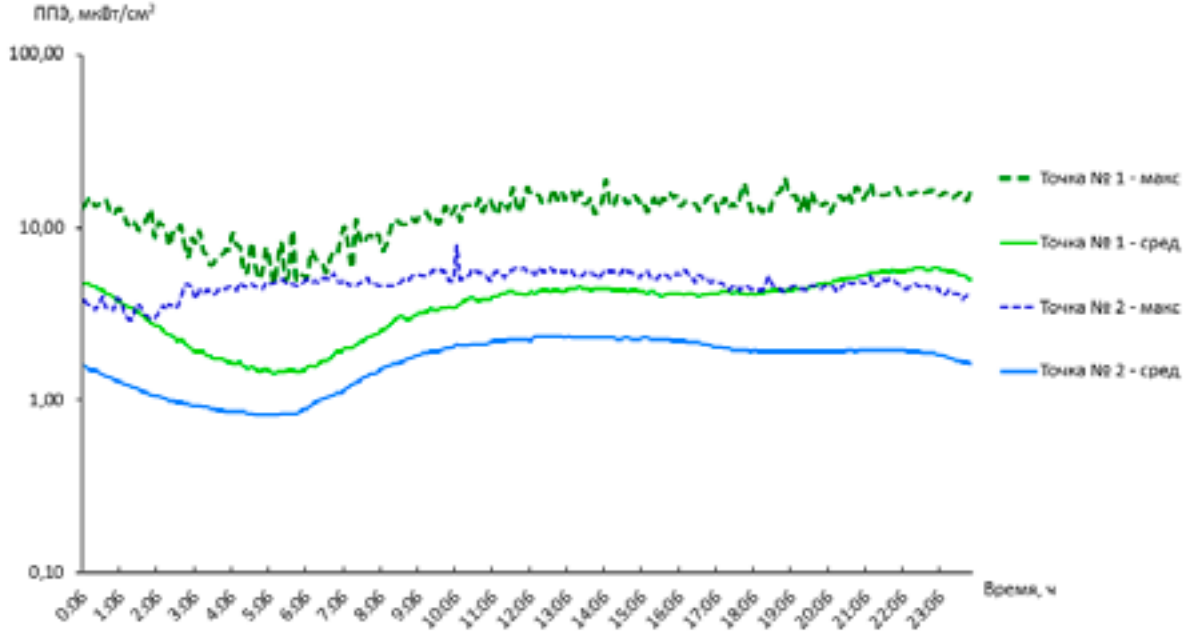


Рисунок 2. Динамика статистический параметров электромагнитной экспозиции в течение суток

Наибольшие уровни экспозиции ЭМП наблюдались в точке № 1 как по средним, так и по максимальным значениям. При этом, суточная динамика средних значений ППЭ имеет схожий характер для обеих точек с ярко выраженными периодами дневного увеличения и ночного спада (рис.1), соответствующих изменениям нагрузки в сетях сотовой связи и мобильного трафика передачи данных. Подобный характер временной динамики уровней ППЭ по максимальным значениям прослеживается только для первой точки исследования.

В дополнении к суточной динамике уровней ЭМП, рассчитанных для отдельных моментов регистрации по каждому из массивов данных мониторинга в точке, в таблице 1 представлены статистические параметры динамики уровней ППЭ в отдельные месяцы мониторинга.

Таблица 1. Сравнительные данные оценки временной динамики уровней ЭМП в точках мониторинга по статистическим критериям

Месяц	Уровни ППЭ, мкВт/см^2							
	Сред ± СКО	**Макс**	**Мин**	**25%**	**50%**	**75%**	**90%**	**95%**
	Точка № 1							
1	5,04 ± 2,63	16,93	0,76	3,05	4,68	6,60	8,65	9,94
2	4,52 ± 2,20	12,34	0,83	2,65	4,39	6,01	7,56	8,44
3	6,35 ± 3,13	18,94	1,17	3,75	6,27	8,44	10,59	11,87
4	6,31 ± 3,27	18,54	0,56	3,23	6,37	8,56	10,63	12,01
5	2,04 ± 0,84	5,37	0,59	1,38	2,02	2,58	3,14	3,53
6	2,05 ± 0,87	5,18	0,62	1,35	2,01	2,62	3,19	3,59
7	2,21 ± 0,89	5,56	0,69	1,54	2,11	2,75	3,46	3,87
8	2,42 ± 1,00	6,24	0,75	1,67	2,29	3,03	3,83	4,31
9	2,20 ± 0,89	5,81	0,74	1,53	2,06	2,73	3,48	3,89
10	2,32 ± 0,95	5,44	0,68	1,61	2,31	2,94	3,59	3,97
11	2,08 ± 0,84	5,07	0,64	1,45	2,05	2,63	3,21	3,57
12	1,80 ± 0,72	4,75	0,51	1,24	1,78	2,26	2,75	3,07
	Точка № 2							
1	1,18 ± 0,43	3,36	0,03	0,78	1,24	1,50	1,71	1,85
2	1,06 ± 0,43	2,32	0,20	0,66	1,09	1,42	1,63	1,72
3	1,14 ± 0,44	2,14	0,28	0,72	1,21	1,49	1,68	1,78
4	1,06 ± 0,94	3,48	0,03	0,08	0,84	1,92	2,32	2,57
5	1,59 ± 0,56	3,07	0,56	1,09	1,70	2,01	2,29	2,42
6	1,49 ± 0,52	7,85	0,53	1,02	1,58	1,85	2,11	2,25
7	1,56 ± 0,56	2,99	0,53	1,04	1,66	1,98	2,26	2,39
8	1,73 ± 0,67	4,06	0,55	1,08	1,86	2,22	2,53	2,70
9	3,03 ± 1,15	5,81	0,94	1,99	3,12	3,89	4,57	4,88
10	2,41 ± 0,95	5,40	0,71	1,64	2,40	3,07	3,66	4,08
11	2,17 ± 0,81	4,46	0,60	1,49	2,23	2,75	3,23	3,55
12	1,78 ± 0,92	4,35	0,33	1,01	1,61	2,47	3,14	3,44

Согласно данным таблицы 1 по используемым статистическим критериям уровни ППЭ во второй точке принимали сравнительно меньшие значения, но отличались большей вариабельностью в течение года. Например, для первой точке исследования характерно, что максимальные зарегистрированные значения ППЭ были в 2,4 – 3,4 раза больше средних значений в соответствующие месяцы, тогда как для второй точки это соотношение изменялось от 1,9 до 5,3 раза. Кроме того, в первой точке можно отметить, что в течение 4-х месяцев исследования наибольшие зарегистрированные уровни ППЭ превышали 10 мкВт/см^2 (предельно допустимый уровень для населения). Однако, как показывает оценка по показателям процентилей, для первых

2-х месяцев указанного периода вероятность превышения этого порога составила менее 5%, а в другие 2 месяца – 10%. Для второй точки во время всего периода мониторинга максимальные уровни ППЭ составили 7,85 мкВт/см^2 и с вероятностью 95% уровни электромагнитной экспозиции не превышали величину 4 мкВт/см^2.

Заключение. Системы сотовой связи не только являются важнейшим типом РЭС, участвующим в формировании современной электромагнитной обстановки, особенно ярко выраженной в крупных городах и промышленных центрах, но и являются источниками значительной временной вариабельности уровней ЭМП, обусловленной спецификой эксплуатации подобных систем. В связи с этим особую важность представляют гигиенические подходы, позволяющие оценить реальные условия воздействия ЭМП на здоровье человека в течение длительных временных интервалов. Предложенная система контроля электромагнитной обстановки основана на принципиальной взаимосвязи мощностных характеристик базовой станции и формируемыми ей уровнями ЭМП, возможности длительной регистрации и набора массивов данных с последующим их статистическим анализом как со стороны источника ЭМП (базовой станции), так и со стороны надзорных служб (мониторинг в окружающей среде). Подход длительного мониторинга с анализом вероятностных параметров вариации уровней ЭМП представляется важным инструментом для совершенствования системы гигиенической оценки условия экспозиции человека ЭМП и санитарно-эпидемиологического надзора, особенно в части прогнозирования вероятности превышения пороговых уровней.

ЛИТЕРАТУРА

1. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. – М.: Центрмаг, 2021. – 736 с.
2. СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. – М.: Центрмаг, 2021. – 92 с.
3. Recommendation ITU-T K.83. Monitoring of electromagnetic field levels – 2022. – 44 p.
4. Joshi P., Agrawal M., Thors B., Colombi D., Kumar A., Törnevik C. Power Level Distributions of Radio Base Station Equipment and User Devices in a 3G Mobile Communication Network in India and the Impact on Assessments of Realistic RF EMF Exposure // IEEE Access – 2015. – Vol. 3. P.1051-1059

5. Colombi D., Thors B., Persson T., Wirén N., Larsson LE., Jonsson M., Törnevik C. Downlink power distributions for 2G and 3G mobile communication networks // Radiat. Protection Dosimetry – 2013. – Vol. 157, No. 4. P. 477–487.

6. Bürgi A., Scanferla D., Lehmann H. Time averaged transmitter power and exposure to electromagnetic fields from mobile phone base stations // International Journal of Environmental Research and Public Health – 2014. – Vol. 11, No. 8. P. 8025-8037.

7. Colombi D., Thors B., Wiren N., Larsson L-E., Persson T., Tornevik C. Output power distributions of mobile radio base stations based on network measurements // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering – 2012. – Vol. 44, No. 1. 5p.

8. Persia S., Carciofi C., D'Elia S., Suman R. EMF evaluations for future networks based on Massive MIMO // 2018 IEEE 29th Annual International Symposium on Personal, Indoor and Mobile Radio Communications (PIMRC) – 2018. – P. 1197-1202.

РАЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПИТАНИЯ СТУДЕНТОВ МЕДИКОВ С СУБКЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННОЙ ДЕПРЕССИЕЙ

Б.В. Варданян, О.Е. Рябыш, К.Ю. Савельева, С.О. Иващенко
Научный руководитель: Дударева В.А. - ассистент кафедры здорового образа жизни и диетологии Ростовского Государственного медицинского университета
ФГБОУ ВО «Ростовский Государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Обучение в медицинских вузах характеризуется высокой интенсивностью труда, большим объемом аудиторной и внеаудиторной нагрузки, которое оказывает серьезное влияние на состояние здоровья. Как известно, одной из важнейших составляющих здоровья студентов является рациональное питание, причем, состояние здоровья человека более чем на 50% определяется и зависит от характера питания.

Большая часть студентов испытывает высокий академический стресс. Медицина является одним из самых сложных университетских вузов, и психические расстройства среди студентов-медиков встречаются чаще, чем принято считать. У студентов-медиков часто обнаруживают не только депрессию, но и выгорание и тревожность, которые являются важными проблемами, часто затрагиваемыми в сфере медицинского образования. Если организм с нагрузкой, то возникают различные реакции, способствующие его старению, возникновению различных заболеваний. Уровень разрушительного воздействия этих реакций зависит прежде всего от уровня защиты организма, который возможно повысить в том числе за счет адекватного питания.

Некоторые факторы, которые могут повлиять на психическое здоровье этой группы населения, включают, среди прочего, высокую академическую нагрузку, близость к страдающим пациентам, недостаток сна, ночные дежурства.

Очень долгое времени синдром выгорания не был включен в международную классификацию болезней (МКБ), однако в 2019 году эмоциональное выгорание было официально включено в МКБ-11 как профессиональное явление, а не как заболевание.

Актуальность исследования совладающего поведения студентов как разновидности социального поведения, которое обеспечивает основу для жизнеспособности, адаптивности, обоснована наличием стрессовых факторов обучения в вузе.

Вышеизложенное позволяет предположить, что жизнестойкость, стрессоустойчивость, склонность к депрессии опосредуют влияние стрессогенных факторов на совладающее поведение студентов в вузе. Исследование особенностей совладающего поведения в структуре

таких личностных характеристик студентов, как жизнестойкость, стрессоустойчивость, склонность к депрессии, является актуальной задачей, поскольку данные личностные диспозиции могут оказывать влияние на ресурсы совладения со стрессом.

Цель работы: изучить роль питания в формировании здоровья студентов-медиков, сохранение и укрепление которого необходимо в период их обучения, требующее физической и умственной выносливости организма, а также внедрить новые технологии для корректировки и рационализации их питания.

Материалы и методы: на 1 этапе мы провели опрос, который был представлен двумя анкетами: Больничная шкала тревоги и депрессии (HADS) и анонимная анкета закрытого типа, состоящая из 40 вопросов по фактическому питанию. Анкетирование проводилось дистанционно при помощи «Google Форм» со встроенной статистикой. 2 этап - метод биоимпедансометрии проводился на базе Областного Центра здоровья г. Ростов-на-Дону, с помощью программного обеспечения для проведения измерений и расчета показателей состава тела студентов медиков в составе 53 человека. Следующий заключительный этап — это создание сайта, с помощью которого каждому будет подобрано меню и даны методические рекомендации по коррекции рациона питания на фоне выраженной тревоги и депрессии, а также создание видеоконференций с привлечением квалифицированных специалистов в сфере здравоохранения.

Результаты исследования: таким образом проанализировав результаты состава тела у студентов РостГМУ было установлено, что:

➢15 человек имеют нормальные показатели

➢ 9 человек находятся в супдепрессии

➢ 29 человек в зоне депрессии

Вывод: создание сайта позволит определить оптимальную структуру питания студентов РостГМУ с целью обеспечения высокой работоспособности и профилактики хронических неинфекционных заболеваний, ассоциированных со стресс зависимым стресс продуцированным поведением.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова А.А., Яманова Г.А., Бурлакова И.С. Особенности питания студентов медицинского вуза // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. № 4-2(106). С. 78-81. [AntonovaAA, Yamanova GA, Burlakova IS. On the diet of medical university students. International Research Journal. 2021;(4-2):78-81. (in Russ.)]. DOI: 10.23670/IRJ.2021.106.4.039. EDN: MRZMQN. [1]

2. Гурьевских Э.А., Анкудинова А.В. Гигиеническая оценка рациона питания студентов медицинского университета // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: Материалы V Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Екатеринбург, 09–10 апреля 2020 года. Екатеринбург: Уральский государственный медицинский университет, 2020. С. 515-519. [Gurevskikh EA, Ankudinova AV. Hygienic assessment of nutrition of students of medical university. In: Current issues of modern medical science and healthcare: Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students, Yekaterinburg, April 09–10, 2020. Yekaterinburg: Ural State Medical University, 2020, pp. 515-519. (in Russ.)]. EDN: PHXNXY. [2]

3. Дрожжина Н.А., Максименко Л.В. Организация питания студентов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2013. № 1. С. 112-118. [Drozhzhina NA, Maksimenko LV. Catering students. RUDN Journal of Medicine. 2013;(1):112-118. (in Russ.)]. EDN: PVQRKF. [3]

4. И.К. Васнева, О.Е. Бакуменко. Здоровое питание в борьбе со стрессом в современной жизни студентов https://cyberleninka.ru/article/n/zdorovoe-pitanie-vborbe-so-stressom-v-sovremennoy-zhizni-studentov. [4]

5. МР 2.3.1.0253-21 Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. [5]

СТЕПЕНЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО СОЗРЕВАНИЯ КАК НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЙ ПРЕДИКТОР СПОРТИВНОЙ УСПЕШНОСТИ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ В ВИДАХ СПОРТА С НАИБОЛЕЕ ВЫСОКИМ УРОВНЕМ КОНКУРЕНЦИИ

Т.М. Вахидов[1,2], Г.И.Малякин[1,2], Е.С. Капралова, Э.Н. Безуглов[1,2]

[1]Лаборатория спорта высших достижений института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

[2]Кафедра спортивной медицины и медицинской реабилитации института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Аннотация

Обоснование

Ключевым фактором, определяющим эффективность программ идентификации талантливости, является объективизация статуса биологической зрелости юных спортсменов, что позволяет корректно интерпретировать результаты тестирований физических качеств и спортспецифичных навыков. В связи с этим внедрение в практику работы ведущих спортивных организаций неинвазивных, легко воспроизводимых и релевантных методов определения статуса биологической зрелости представляет большой практический интерес.

Цель исследования

Оценить релевантность и практичность метода определения степени биологического созревания с использованием ультразвуковой диагностики среди юных футболистов элитного и суб-элитного уровней.

Методы

В исследовании приняли участие 103 юных футболиста в возрасте 11-12 лет (рост 150.2±14.2 см, масса 39.9±12.5 кг) из шести команд второго дивизиона первенства города (субэлитный уровень), а также 51 воспитанник мужского пола 11-12 лет из ведущей футбольной академии (рост 152.2^12.8 см, масса 41.0±12.8 кг), которых отнесли к элитному уровню. Всем участникам были выполнены измерения антропометрии, степени соматического созревания (по методу Хамиса-Роше) и скелетного возраста с использованием ультразвукового аппарата BAUSport™ Sonic Bone.

Результаты

Средний хронологический возраст, масса и рост в группах элитных и суб-элитных футболистов были сопоставимы ($p=0.67$, $p=0.16$, $p=0.31$ соответственно), а скелетный возраст значимо превышал хронологический ($p=0.042$) - более выражение в группе воспитанников ведущей футбольной академии ($p=0.031$).

Сравнение четырех групп суб-элитных футболистов с разным скелетным возрастом продемонстрировали значимую разницу между ними в отношении хронологического возраста ($p<0.001$), роста ($p<0.001$), массы ($p<0.001$) и индекса массы тела ($p=0.008$). Однако юные

футболисты с самым маленьким скелетным возрастом статистически значимо не отличались от самых зрелых футболистов в отношении большинства скоростно-силовых и спортспецифических навыков ($p<0.05$).

Заключение

Метод определения степени биологического созревания с использованием ультразвуковой диагностики является важным доступным и практичным инструментом для прогнозирования спортивной успешности у юных футболистов разного уровня.

Ключевые слова, биологическая зрелость, идентификация талантов, скелетный возраст, юные футболисты.

Введение

Исторически люди, обладающие исключительными способностями и достижениями, за что получали статус “одаренного” и/или “талантливого” человека. Первоначально исследователей привлекала интеллектуальная талантливость, и поэтому постоянно была поводом для изучения и описания [1], но стремление людей “занять пьедестал” наблюдается не только в науке и искусстве, поэтому с течением времени стали говорить о талантливости в спорте **[2, 3].** Несмотря на осознании надобности целостного мультидисциплинарного подхода в данном вопросе, идентификация талантливости среди детей и юношей в наиболее конкурентных видах спорта (футболе и хоккее) до сих пор, чаще всего, происходит на основании субъективного мнения тренеров и скаутов **[4, 5].** И чаще всего в поле зрения субъективного мнения оказываются навыки, определяющиеся антропометрическими данными и физическими качествами.

В связи с этим, как убедительно демонстрируют множество исследований, преимущество могут получать дети, рождённые ближе к временной точке отнесения набора в группы («раннерожденные») (чаще всего, это январь-март), что приводит к широкому распространению эффекта относительного возраста [6]. Это связано с тем, что такие дети с большей вероятностью будут более зрелыми чем их «позднерожденные» сверстники (октябрь-ноябрь) [7]. При этом подобное преимущество «раннерожденных» спортсменов отмечается на юношеском уровне и исчезает на взрослом [8]. Подтверждением указанным выше утверждением является перепредставленность «раннерожденных» юных спортсменов на юношеском и молодежном уровнях в наиболее популярных видах спорта (футбол, хоккей и легкая атлетика) или в видах спорта, где сила является ключевым фактором успешности (тяжелая атлетика) **[9, 10, 11, 12]. В** связи с этим определение статуса биологической зрелости является ключевым фактором объективизации программ идентификации талантливости и сохранению в спорте наиболее талантливых детей и подростков **[13].**

«Золотым» стандартом определения степени биологической зрелости является определение скелетного возраста (СВ) с использованием рентгенографии левой кисти. Однако этот способ имеет несколько значимых недостатков (стоимость, необходимость обучения специалистов, ионизирующее излучение), что делает важным в практическом отношении поиск

методов определения скелетного возраста, лишенных этих недостатков. Помимо рентгенографии, возможно использование других аппаратных методов, например ультразвукового исследования (УЗИ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) **[14].** Использование УЗИ для оценки СВ было предложено еще в конце двадцатого века **[15]** и на данный момент набирает значимые обороты использования в мировой спортивной практике, так как сочетает в себе портативность, удобство в применении и быстроту выполнения исследований **[16].** Помимо определения величины скелетного возраста, данная методика предоставляет автоматический расчет крайне важного для спортивных врачей и тренеров параметра - возраста при пиковой скорости роста, который отображает возраст ребенка, при котором скорость его роста будет максимальной.

В связи с этим использование данного метода представляется простым и надежным инструментом для выявления наиболее конкурентоспособных спортсменов, который позволяет произвести оценку физических качеств и спортспецифических навыков с поправкой на объективный статус биологической зрелости.

Цель исследования: оценить релевантность и практичность метода определения степени биологического созревания с использованием ультразвуковой диагностики среди юных футболистов разного уровня.

Методы

Дизайн исследования

На первом этапе проведенного кросс-секционального исследовании приняли участие 103 суб-элитных юных (11-12 лет) футболиста (рост 150.2±14.2 см, масса 39.9±12.5 кг, ИМТ 17.5±3.8 км/м^2) из шести команд, принявших участие в экспериментальном турнире, участники которого относились к академиям команд второго дивизиона в чемпионате города с населением более 8 миллионов человек. Они были дополнительно разделены на четыре группы в зависимости от скелетного возраста, в которых в дальнейшем проведен сравнительный анализ.

Во втором этапе исследования приняли участие 51 воспитанник 11-12 лет ведущей футбольной академии (рост 152.2±12.8 см, масса 41.0±12.8 кг, ИМТ 17.6±3.7 км/м^2), результаты тестирования которых сравнили с данными, полученными на первом этапе исследования.

Всем участникам были выполнены измерения антропометрии (рост, масса, индекс массы тела), степени соматического созревания (по методу Хамиса-Роше), скелетного возраста с использованием ультразвукового аппарата BAUSport™ Sonic Bone, а также проведены тестирования физических качеств и спортспецифических навыков: спринт 5, 10, 20 и 30 метров, прыжок с противодвижением, горизонтальный прыжок, Т-тест, дриблинг, смена направления.

Критерии соответствия

- Наличие информированного письменного согласия
- Нахождение в возрасте до “скачка роста”
- Отсутствие травм или иных заболеваний на момент проведения исследования

- Участие в экспериментальном турнире (для первого этапа исследования)

Методы регистрации исходов

Система BAUSport с сопутствующим программным обеспечением производства компании SonicBone Medical Ltd., Ришон ле-Цион, Израиль, использовалась для оценки СВ на основе ультразвуковой оценки трех зон окостенения на запястье левой руки согласно инструкциям производителя и рекомендациям по эксплуатации. Для определения скелетного возраста испытуемый должен положить левую кисть (поочередно в трех разных положениях) на платформу аппарата. Исследуются центры вторичного окостенения дистальных отделов лучевой и локтевой костей на эпифизах в области кисти: зон роста третей пястной кости, дистальный эпифиз и прилегающего к ней тела проксимальной фаланги. Информация,
основанная на скорости распространения высокочастотных волн ультразвукового импульса через кость и коэффициент затухания поступает в интегрированный алгоритм, использующий метод балльной оценки, разработанный Таннером и Уайтхаусом (метод TW2) (Изображение 1).

Изображение 1. А, Б, В - Положения кисти, в которых проводится оценка зон окостенения с помощью системы BAUSport.

Определение степени соматического созревания проводилось способом математического моделирования был получен расчётом процента от прогнозируемого роста взрослого человека, который был рассчитан с использованием формулы Хамиса-Роше при помощи программного обеспечения для работы с электронными таблицами “Excel”:

прогнозируемый рост взрослого человека = PO + pi x рост ребенка (дюймы)
+ P2 x вес ребенка (фунты)
+ P3 x средний рост родителей (дюймы),

где PO, pi, P2, P3 - коэффициенты, полученные из соответствующих таблиц **[17].**

Определение антропометрических данных включало в себя измерения роста и массы участников и их родителей, а также расчёт ИМТ. Для измерения роста и веса игроков использовались портативный стадиометр и напольные весы. Все измерения были выполнены в соответствии с правилами Международного общества кинанантропометрии. Для расчёта индекса массы тела использовалась формула: “масса (кг) / рост (м)^2”.

Показатели физических и спортспецифических навыков были получены в ходе проведения тестирования, включающего в себя следующие навыки: спринт 5, 10, 20 и 30 метров; прыжок с противодвижением; горизонтальный прыжок; Т-тест; скоростное ведение мяча; бег со сменой направления.

Для проведения данного тестирования использовалась система синхронизации SmartSpeed

Pro (VALD Performance, Брисбен, Австралия) и система Smartjump™, VALD Performance, Австралия). С полным описанием методики выполнения упражнения и тестов можно ознакомиться в исследовании Bezuglov et al., 2023 **[18].** Все тестирования выполнялись на искусственном футбольном покрытие в привычной для участников одежде и обуви.

Этическая экспертиза

Для проведения данного исследования было получено разрешение локального этического комитета (выписка из протокола № 22-21 от 09.12.2021). Исследование было проведено согласно принципам и правилам Хельсинской декларации. Все участники и их представители предоставили согласие на участие в данном исследовании.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился в программе Jamovi. Для оценки нормальности распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Для сравнения переменных в разрезе ранне, поздне и вовремясозревающих использовался критерий Крускала-Уоллеса (ненормальное распределение) или ANOVA (нормальное распределение) с последующим попарным сравнением при значимом различии.

Результаты

Проведенный анализ выявил, что средний хронологический возраст (139.5 и 139 месяцев, $p=0.67$), масса ($p=0.16$) и рост ($p=0.31$) в группе элитных и суб-элитных юных футболистов были сопоставимы. Скелетный возраст в обеих группах значимо превышал хронологический ($p=0.042$) и это было более выражение в группе воспитанников элитной футбольной академии (142±12.1 и 146±11.7 месяцев соответственно, $p=0.031$).

При этом степень соматического созревания была выше в группе футболистов из элитной академии (80.4±2.7% и 81.6±2.5% соответственно, $p=0.014$). Скелетный возраст в изучаемой выборке варьировался от 9 лет и 9 месяцев до 14 лет и 7 месяцев (средний возраст 11 лет и 10 месяцев), а хронологический возраст от 10 лет и 8 месяцев до 12 лет 7 месяцев (средний возраст 11 лет и 8 месяцев).

Сравнение четырех групп суб-элитных юных футболистов с разным скелетным возрастом продемонстрировали значимую разницу между ними в отношении хронологического возраста ($p<0.001$), роста ($p<0.001$), массы ($p<0.001$) и индекса массы тела ($p=0.008$). Однако юные футболисты с самым маленьким скелетным возрастом статистически значимо не отличались от самых зрелых футболистов в отношении скоростно-силовых и спортспецифических навыков ($p>0.05$). Разница была обнаружена только в горизонтальном прыжке между 2 и 4 процентилем ($p=0.004$).

Обсуждение

Результаты данного исследования демонстрируют, что степень биологической зрелости статистически значимо выше среди элитных юных футболистов. При этом разброс показателей скелетного возраста может находиться в широком диапазоне и значительно превышать показатели хронологического возраста, как среди элитных, так и среди суб-элитных юных футболистов, однако среди выборки элитных футболистов разница между хронологическим возрастом и скелетным более выражена, что демонстрирует взаимосвязь игры на высоком уровне в юношеском возрасте с показателем скелетного возраста. В исследовании Malina и соавт. хронологический возраст и СВ совпадали у элитных футболистов в возрасте от 11 до 12 лет, но СВ был более высоким по сравнению со СВ у игроков в возрасте от 14 до 16 лет. **[19].** Данные различия, скорее всего, связаны с тем, что селекция в юношеском Российском футболе основывается на удержании более зрелых детей уже с 11-12 лет.

В командах одной возрастной группы могут быть юные футболисты чей скелетный возраст различается более чем на 30 месяцев.

Юные футболисты с разным скелетным возрастом демонстрируют значимые различия в отношении антропометрических данных, при этом статистически значимо не различаются в отношении физических качеств и спортспецифических навыках, за исключением показателей горизонтального прыжка. Аналогичные данные были получены среди выборки элитных теннисистов и волейболистов **[20, 21].** Вероятно, именно наличие сопоставимых с более зрелыми ровесникам ключевых для спортивной успешности качеств позволяет менее зрелым юным футболистам конкурировать с более крупными ровесниками и оставаться в составе команд, что было обнаружено в исследовании Bezuglov и соавт. **[18].**

Определение скелетного возраста с помощью ультразвука является валидизированной методикой определения биологической зрелости, что подтверждается многими исследованиями **[16, 22]** Rachmiel и соавт. показали, что ультразвуковой метод обладает высокой воспроизводимостью, а результаты сопоставимы с рентгеновским методом [23]. В другом исследовании на 85 юных атлетов обоих полов была продемонстрирована высокая степень связи между автоматическими методами оценки СВ с использованием BAUSport (r=0.98) и рентгенологическими программами BoneXpert (r=0.96-0.99) **[24].** Кроме того, в исследовании Leyhr и соавт. на юных немецких футболистах элитного уровня был установлен коэффициент корреляции 0.8 между МРТ и ультразвуковым методом определения скелетного возраста **[25].**

Данное исследование имело ряд ограничений. Во-первых, кросс-секциональный дизайн исследования, который не позволил оценить динамику изучаемых параметров. Во-вторых, отсутствие контрольной группы, в которой скелетный возраст определялся бы с помощью рентгенографии левой кисти.

Заключение

Таким образом, метод определения степени биологического созревания с использованием ультразвуковой диагностики является важным доступным и практичным инструментом для прогнозирования спортивной успешности у юных футболистов разного уровня.

Измерение степени биологического созревания с использованием ультразвука позволило выявить значимые различия в антропометрических показателях, но не в спортспецифичных навыках и физических качеств юных футболистов с разным скелетным возрастом.

Участие авторов

Все авторы принимали участие в проведении исследовании и сборе данных.

Вахидов Тимур Маратович, Малякин Георгий Ильич и Капралова Елизавета Сергеевна занимались поиском и анализом соответствующей литературы и написанием первоначального текста.

Безуглов Эдуард Николаевич подготовил окончательный вариант рукописи. Все авторы принимали участие в проведении статистического анализа, а также ознакомились с окончательной версией рукописи и дали свое согласие.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Terman, L. M. (1925). Genetic Studies of Genius: Mental and Physical Traits of a Thousand Gifted Children, Vol. 1, 2nd Edn. Stanford, CA: Stanford University Press

2. Williams AM, Reilly T. Talent identification and development in soccer. J Sports Sci. 2000 Sep;18(9):657-67.

3. Williams AM, Ford PR, Drust B. Talent identification and development in soccer since the millennium. J Sports Sci. 2020 Jun-Jun;38(l 1-12): 1199-1210.

4. Fuhre J, 0ygard A, Sas th er SA. Coaches' Criteria for Talent Identification of Youth Male Soccer Players. Sports (Basel). 2022 Jan 18; 10(2): 14.

5. Lemoyne J, Brunelle JF, Huard Pelletier V, Glaude-Roy J, Martini G. Talent Identification in Elite Adolescent Ice Hockey Players: The Discriminant Capacity of Fitness Tests, Skating Performance and Psychological Characteristics. Sports (Basel). 2022 Apr 8;10(4):58.

6. de la Rubia A, Lorenzo-Calvo J, Lorenzo A. Does the Relative Age Effect Influence Short- Term Performance and Sport Career in Team Sports? A Qualitative Systematic Review. Front Psychol. 2020 Sep 23;11:1947.

7. Malina RM, Rogol AD, Cumming SP, Coelho e Silva MJ, Figueiredo AJ. Biological maturation of youth athletes: assessment and implications. Br J Sports Med. 2015 Jul;49(13):852-9.

8. Boccia G, Cardinale M, Brustio PR. Elite Junior Throwers Unlikely to Remain at the Top Level in the Senior Category. Int J Sports Physiol Perform. 2021 Sep 1;16(9):1281-1287.

9. Bezuglov EN, Nikolaidis PT, Khaitin V, Usmanova E, Luibushkina A, Repetiuk A, Waskiewicz Z, Gerasimuk D, Rosemann T, Knechtle B. Prevalence of Relative Age Effect in Russian Soccer: The Role of Chronological Age and Performance. Int J Environ Res Public Health. 2019 Oct 23;16(21):4055.

10. Bezuglov E, Shvets E, Lyubushkina A, Lazarev A, Valova Y, Zholinsky A, Waskiewicz Z. Relative Age Effect in Russian Elite Hockey. J Strength Cond Res. 2020 Sep;34(9):2522-2527.

11. Bezuglov E, Shoshorina M, Emanov A, Semenyuk N, Shagiakhmetova L, Cherkashin A, Pirmakhanov B, Morgans R. The Relative Age Effect in the Best Track and Field Athletes Aged 10 to 15 Years Old. Sports (Basel). 2022 Jun 28; 10(7): 101.

12. Kollars JM, Taber CB, Beyer KS. Relative Age Effects in Elite Olympic Weightlifters. J Strength Cond Res. 2021 May 1;35(5): 1223-1228.

13. Charbonnet B, Sieghartsleitner R, Schmid J, Zuber C, Zibung M, Conzelmann A. Maturity - based correction mechanism for talent identification: When is it needed, does it work, and does it help to better predict who will make it to the pros? J Sports Sci Med. 2022 Dec l;21(4):640-657.

14. Satoh M. Bone age: assessment methods and clinical applications. Clin Pediatr Endocrinol. 2015 Oct;24(4): 143-52.

15. Wagner UA, Diedrich V, Schmitt O. Determination of skeletal maturity by ultrasound: a preliminary report. Skeletal Radiol. 1995 Aug;24(6):417-20

16. Riieger E, Hutmacher N, Eichelberger P, Locherbach C, Albrecht S, Romann M. Ultrasound Imaging-Based Methods for Assessing Biological Maturity during Adolescence and Possible Application in Youth Sport: A Scoping Review. Children (Basel). 2022 Dec 17;9(12): 1985.

17. Khamis HJ, Roche AF. Predicting adult stature without using skeletal age: the Khamis- Roche method. Pediatrics. 1994 Oct;94(4 Pt l):504-7. Erratum in: Pediatrics 1995 Mar;95(3):457.

18. Bezuglov E, Malyakin G, Emanov A, Malyshev G, Shoshorina M, Savin E, Lazarev A, Morgans R. Are Late-Born Young Soccer Players Less Mature Than Their Early-Born Peers, Although No Differences in Physical and Technical Performance Are Evident? Sports. 2023; 11(9): 179.

19. Malina RM, Pena Reyes ME, Figueiredo AJ, Coelho E Silva MJ, Horta L, Miller R, Chamorro M, Serratosa L, Morale F. Skeletal age in youth soccer players: implication for age verification. Clin J Sport Med. 2010 Nov;20(6):469-74.

20. Luna-Villouta P, Paredes-Arias M, Flores-Rivera C, Hernandez-Mosqueira C, Souza de Carvalho R, Faundez-Casanova C, Vasquez-Gomez J, Vargas-Vitoria R. Anthropometric Characterization and Physical Performance by Age and Biological Maturation in Young Tennis Players. Int J Environ Res Public Health. 2021 Oct 17;18(20):10893.

21. Albaladejo-Saura M, Vaquero-Cristobal R, Garcia-Roca J A, Esparza-Ros F. Influence of biological maturation status on selected anthropometric and physical fitness variables in adolescent male volleyball players. PeerJ. 2022 Apr 5;10:el3216.

22. Ruf L, Cumming S, Hartel S, Hecksteden A, Drust B, Meyer T. Construct validity of age at predicted adult height and B AUS skeletal age to assess biological maturity in academy soccer. Ann Hum Biol. 2021;48(2): 101-109.

23. Rachmiel M, Naugolni L, Mazor-Aronovitch K, Koren-Morag N, Bistritzer T. Bone Age Assessments by Quantitative Ultrasound (SonicBone) and Hand X-ray Based Methods are Comparable. Isr Med Assoc J. 2017;19(9):533-538

24. Cumming SP, Pi-Rusinol R, Rodas G, Drobnic F, Rogol A. The validity of automatic methods for estimating skeletal age in young athletes: a comparison of the BAUSport ultrasound system and BoneXpert with the radiographic method of Fels. Biology of Sport. 2024;41(l):61-67.

25. Leyhr D, Murr D, Basten L, et al. Biological Maturity Status in Elite Youth Soccer Players: A Comparison of Pragmatic Diagnostics With Magnetic Resonance Imaging. Front Sports Act Living. 2020;2:587861.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА КАК ФАКТОРА РИСКА ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ДАННЫЕ ЭССЕ-РФ

Л.И. Гоманова[1], Ю.А. Баланова[1], С.А. Шальнова[1], О.Е. Ивлев[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г.Москва

Резюме

Цель работы. Изучение социально-демографических и поведенческих показателей лиц с психоэмоциональным стрессом (ПЭС) и анализ влияния хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) на вклад ПЭС в смертность в российской популяции 25-64 лет.

Материал и методы. Изучены представительные выборки 8169 мужчин и 12931 женщин 25-64 лет 13 регионов Российской Федерации (РФ), обследованные в рамках исследования «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в регионах Российской Федерации» (ЭССЕ-РФ). Обследованные были опрошены по вопроснику, содержащему модуль о наличии ПЭС – Perceived Stress Scale-10. Уровни ПЭС ранжированы следующим образом: низкий уровень: 0-11 баллов, средний уровень: 12-19 баллов, высокий уровень: 20-40 баллов. Для анализа включали социально-демографические и поведенческие характеристики. Для оценки вклада ПЭС в смертность использовались данные проспективного наблюдения за выборкой ЭССЕ-РФ, включившего 6907 мужчин и 10329 женщин из 11 регионов РФ. Данные для проспективного этапа собраны на момент 2021 года. Статистический анализ проведен при помощи среды R 4.2.

Результаты. В многофакторной модели для высокого уровня ПЭС значимы такие социально-экономические характеристики как низкий уровень образования и низкий/средний уровень дохода, а среди поведенческих – низкое потребление овощей/фруктов и короткий сон (5-6 часов). Для мужчин дополнительно значимы возраст 45-54 лет, проживание в селе, злоупотребление алкоголем, низкая физическая активность. Для женщин – отсутствие работы, отсутствие брака, курение, избыточное потребление соли. Ассоциация высокого уровня ПЭС и конечных точек отсутствовала у участников без ХНИЗ в анамнезе, но появлялась у участников с ХНИЗ. Причем отличие между отношением рисков у участников без ХНИЗ в анамнезе и участников с ХНИЗ значимо в отношении комбинированной конечной точки ($p = 0,025$). Более того, переход из низкого уровня ПЭС в высокий уровень ПЭС у лиц с ХНИЗ значимо влияет на исходы ($p=0,002$).

Заключение. Проведенный нами анализ позволил выявить таргетные группы населения, наиболее подверженные высокому уровню ПЭС, а также подчеркнуть значение ХНИЗ для лиц, испытывающих высокий уровень психоэмоционального напряжения, что необходимо учитывать при проведении профилактических программ.

***Ключевые слова*:** психоэмоциональный стресс; фактор риска; хронические неинфекционные заболевания; социально-демографические и поведенческие показатели; смертность

***Список сокращений*:**

ВО – высшее образование; ДИ – доверительный интервал; КТ – конечная точка; ККТ – комбинированная конечная точка; МЕТ – метаболический эквивалент; ОР – отношение рисков; ОШ – отношение шансов; ПЭС – психоэмоциональный стресс; РФ – Российская Федерация; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; УД – уровень дохода; УО – уровень образования; ФА – физическая активность; ФР – фактор риска; ХНИЗ – хронические неинфекционные заболевания; ЭССЕ-РФ – Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в регионах Российской Федерации; PSS-10 – Perceived Stress Scale-10

Введение

Хронические неинфекционные заболевания (ХНИЗ) на современном этапе вносят серьезный социально-экономический ущерб, приводя ежегодно более, чем к 40 млн смертей в мире [1]. Модификация традиционных факторов риска (ФР), к которым относятся, повышенное артериальное давление, гипергликемия, дислипидемия, курение, чрезмерное потребление алкоголя и др., становится решающей задачей в профилактике ХНИЗ и улучшении качества жизни населения. Наряду с традиционными ФР отдельное внимание в научном мире уделяется психоэмоциональному благополучию человека, в частности, проблеме психоэмоционального стресса (ПЭС), вносящего значительный вклад в смертность населения. Понимание эпидемиологических особенностей лиц с высоким уровнем ПЭС позволяет сформулировать таргетные программы улучшения психоэмоционального состояния, что непосредственно влияет на снижение риска развития ХНИЗ и прогрессирования фатальных событий.

Целью работы является изучение социально-демографических и поведенческих показателей лиц с ПЭС и анализ влияния ХНИЗ на вклад ПЭС в смертность в российской популяции 25-64 лет.

Материал и методы

Настоящая работа проведена с включением данных обследования репрезентативной выборки, выполненного в 2012-2014гг в рамках исследования «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в регионах Российской Федерации» (ЭССЕ-РФ) на базе ФГБУ ГНИЦ ПМ Минздрава России (в настоящее время – ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России). Представительная выборка с откликом более 70% включала в себя население 25-64 лет, проживающее в 13 регионах Российской Федерации (РФ), особенности формирования выборки описаны ранее [2]. Исследование получило одобрение Независимого этического комитета ФГБУ ГНИЦ ПМ Минздрава России (в настоящее время – ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России). Все участники подписали информированное согласие на участие в обследовании, выборка включала 8169 мужчин и 12931 женщин. Для анализа включали социально-демографические и поведенческие характеристики. Среди социально-демографических показателей изучали пол, возрастные группы (25-34, 35-44, 45-54, 55-64 лет), уровень образования (УО, группы: высшее образование (ВО) / отсутствие ВО), уровень дохода (УД, группы: низкий / средний / высокий), занятость (работа есть / безработица), семейное положение (семья есть / семьи нет), тип поселения (город / сельская местность), поведенческие показатели (курение, злоупотребление алкоголем, низкая физическая активность (ФА), нерациональное питание (избыточное потребление соли, низкое потребление овощей и фруктов), длительность сна (группы: сон 5-6 часов, сон 7-8 часов, сон 9-10 часов, сон 11-12 часов). Статус курения оценивался по следующим категориям: курящие, бросившие и никогда не курившие. Для оценки злоупотребления алкоголя проводился расчет потребления в пересчете на чистый этанол ≥168 г в неделю для мужчин; ≥84 г для женщин. Суммарная ФА<600 в метаболическом эквиваленте, МЕТ означала низкую ФА. Досаливание готовой пищи, потребление соленых продуктов в категориях ежедневного или почти ежедневного потребления принималось за избыточное потребление соли. За низкое потребление овощей и фруктов принималось потребление <400 г овощей и фруктов в день. ПЭС оценивался по «Шкале воспринимаемого стресса-10» (Perceived Stress Scale-10, PSS-10), которая является удобным и валидированным методом оценки психоэмоционального восприятия, широко применяется в разных странах [3]. Для оценки вклада ПЭС в смертность использовались данные проспективного наблюдения за выборкой ЭССЕ-РФ, включившего n=6907 мужчин и n=10329 женщин из 11 регионов РФ. Данные для проспективного этапа собраны на момент 2021 года.

Особенности изучаемой выборки позволили ранжировать отрезные значения низкого, среднего и высокого уровней ПЭС исходя из ассоциаций ПЭС и смертности. Тестирование на нелинейность показало, что и у мужчин, и у женщин ассоциацию общей смертности и ПЭС

можно считать линейной, p=0,34 и p=0,18, соответственно. Поэтому дальнейшие вычисления проводили при помощи модели Кокса с поправкой на возраст, пол, и регион. Анализ ассоциации ПЭС и общей смертности при помощи взаимодействий продемонстрировал, что размер ассоциации ПЭС и общей смертности не различается в зависимости от пола и возраста: p=0,49 и p=0,90, соответственно, что позволило нам выбрать единые по полу и возрасту отрезные значения. В качестве «идеального уровня» ПЭС были рассмотрены респонденты с баллом ПЭС «0». «Низкому уровню» ПЭС соответствовали значения, которые увеличивали риск смерти не более чем на 50% в сравнении с «идеальным» ПЭС. «Среднему уровню» ПЭС соответствовали значения, которые увеличивали риск смерти более, чем на 50%, но менее, чем на 100. Наконец, «высокий уровень» ПЭС соответствовал показателям, которые увеличивали риск смерти на 100% и более, по сравнению с идеальным уровнем ПЭС. Таким образом, низкий уровень ПЭС: 0-11 баллов, средний уровень ПЭС: 12-19 баллов, высокий уровень ПЭС: 20-40 баллов.

Выделяли жесткую конечную точку (КТ) – смерть от всех причин, и комбинированную КТ (ККТ) – сердечно-сосудистая смерть и нефатальные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) (инфаркт миокарда (ИМ), инсульт). Анализ ассоциаций ПЭС и КТ проведен с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. В категорию «ХНИЗ есть» входили участники хотя бы с одним ХНИЗ – артериальная гипертония, ИМ, инсульт, ишемическая болезнь сердца, аритмия, другие ССЗ, онкологические заболевания, сахарный диабет 2 типа, ревматоидный артрит, хронический бронхит, бронхиальная астма, ожирение, абдоминальное ожирение. В категорию «ХНИЗ нет» входили здоровые респонденты без единого ХНИЗ в анамнезе. Статистический анализ проведен при помощи среды R 4.2. Непрерывные параметры представлены в виде среднего и стандартного отклонения (m±sd). Сравнение непрерывных параметров между группами проведено при помощи критерия Манна-Уитни. Анализ ассоциации между повышенным ПЭС и социально-демографическими показателями проведен при помощи логистической регрессии. Анализ ассоциации между повышенным ПЭС и КТ проведен при помощи модели пропорциональных рисков Кокса. Уровень значимости принят равным 0,05.

Результаты

Особенности уровней ПЭС в зависимости от социально-демографических и поведенческих характеристик представлены в таблице 1. По данным ЭССЕ-РФ средний уровень ПЭС в популяции составил 15,3±6,3 баллов по шкале PSS-10, что соответствует среднему уровню ПЭС. Отмечаются значимые различия по полу – женщины более подвержены психоэмоциональному напряжению в сравнении с мужчинами (16,0±6,2 vs 14,1±6,1 баллов соответственно), при этом подобная тенденция отмечается при анализе других показателей, включая возрастные группы (p<0,001). Более высокие уровни ПЭС отмечаются среди участников

без ВО, неработающих, с низким / средним УД, а также не состоящих в браке. При оценке влияния поведенческих ФР отмечается тенденция к большему уровню ПЭС среди курящих мужчин и женщин, однако при объединенном анализе наблюдается обратная связь. Отсутствие чрезмерного потребления алкоголя связано с увеличением уровня ПЭС в объединенном анализе, хотя раздельный анализ различий не выявил. Гиподинамия не приводила к изменению уровня ПЭС, однако у женщин при достижении целевых уровней физической активности (ФА) отмечается более высокий уровень ПЭС (p=0,038). Нерациональное питание продемонстрировало взаимообратные связи. Среди лиц с низкой длительностью сна (5-6 часов) отмечается значимо более высокий уровень ПЭС в сравнении с большей продолжительностью сна (7-8 часов).

Ассоциации социально-демографических и поведенческих характеристик с высоким уровнем ПЭС представлены в таблице 3. В многофакторной модели для наличия высокого уровня ПЭС значимы такие показатели как низкий УО, низкий/средний УД, низкое потребление овощей/фруктов, сон 5-6 часов. Для мужчин дополнительно значимы возраст 45-54 лет, проживание в селе, злоупотребление алкоголем, низкая ФА. Для женщин – отсутствие работы, отсутствие брака, курение, избыточное потребление соли.

Таблица 1. Средние значения (M±sd) в баллах ПЭС среди российской популяции в зависимости от социально-демографических и поведенческих показателей в регионах-участниках ЭССЕ-РФ

	Все	Мужчины	Женщины	p-значение по полу
Все (25-64 лет)	15,3±6,3	14,1±6,1	16,0±6,2	<0,001
Возраст 25–34 лет	14,9±6,1	13,9±5,9	15,8±6,1	<0,001
Возраст 35–44 лет	15,1±6,3*	14,0±6,2	16,0±6,2	<0,001
Возраст 45–54 лет	15,4±6,3*	14,5±6,1*	15,9±6,3	<0,001
Возраст 55–64 лет	15,4±6,4	14,0±6,2*	16,2±6,3	<0,001
Образование ниже среднего	15,2±6,2	14,5±6,0	15,7±6,3	<0,05
Среднее образование	15,6±6,3*	14,4±6,1	16,3±6,3*	<0,001
Высшее образование	14,9±6,2**	13,7±6,1**	15,7±6,2**	<0,001
Низкий уровень доходов	17,5±6,6	15,7±6,4	18,1±6,5	<0,001
Средний уровень доходов	15,1±6,0**	14,2±5,9**	15,7±6,0**	<0,001
Высокий уровень доходов	13,6±6,3**	12,9±6,2**	14,4±6,3**	<0,001
Город	15,3±6,3	14,1±6,2	16,0±6,3	<0,001
Село	15,0±6,1*	13,7±5,8*	15,9±6,1	<0,001
Работа есть	15,0±6,2	14,0±6,1	15,8±6,2	<0,001
Работы нет	16,1±6,4**	14,6±6,3**	16,6±6,4**	<0,001
Семья есть	15,0±6,2	14,0±6,1	15,8±6,1	<0,001
Семьи нет	15,7±6,4**	14,3±6,2	16,2±6,4*	<0,001
Злоупотребление алкоголем	14,7±6,6	14,1±6,7	16,0±6,3	<0,001
Не злоупотребление алкоголем	15,3±6,3*	14,1±6,1	16,0±6,2	<0,001

Низкая физическая активность	15,2±6,2	14,0±6,2	15,9±6,1	<0,001
Нормальная физическая активность	15,3±6,3	14,1±6,1	16,1±6,3*	<0,001
Курение есть	15,0±6,3	14,3±6,0	16,4±6,5	<0,001
Курения нет	15,3±6,3**	13,9±6,2*	15,9±6,2*	<0,001
Потребление соли ≥ 5 г	15,0±6,3	13,8±6,1	15,7±6,3	<0,001
Потребление соли < 5 г	15,6±6,2**	14,4±6,1**	16,4±6,2**	<0,001
Овощи / фрукты ≥ 400 г	15,0±6,3	13,5±6,2	15,7±6,2	<0,001
Овощи / фрукты < 400 г	15,6±6,2**	14,6±6,0**	16,6±6,2**	<0,001
Сон 5-6 часов	16,1±6,4	14,7±6,3	16,9±6,3	<0,001
Сон 7-8 часов	14,9±6,1**	13,8±6,0**	15,6±6,1**	<0,001
Сон 9-10 часов	15,1±6,4	13,8±6,2	15,8±6,4	<0,001
Сон 11-12 часов	15,5±6,3	14,8±6,1	15,8±6,4	0,208

Примечание: * - p-значение <0,05; ** - p-значение <0,001 в сравнении с предыдущей группой риска

Таблица 2. Социально-демографические и поведенческие показатели, ассоциированные с высоким уровнем ПЭС в российской популяции по данным ЭССЕ-РФ

	Мужчины		Женщины	
	ОШ (ДИ)	p-значение	ОШ (ДИ)	p-значение
Возраст 25-34 лет	-	-	-	-
Возраст 35-44 лет	1,29 (0,98-1,68)	0,065	1,06 (0,87-1,29)	0,551
Возраст 45-54 лет	1,57 (1,01-2,43)	0,043	1,06 (0,78-1,44)	0,720
Возраст 55-64 лет	1,54 (0,83-2,86)	0,170	1,10 (0,72-1,68)	0,668
Низкий уровень образования	1,21 (1,07-1,36)	0,003	1,15 (1,06-1,25)	0,001
Низкий или средний уровень доходов	1,20 (1,03-1,40)	0,020	1,36 (1,20-1,55)	<0,001
Отсутствие работы	1,16 (0,99-1,36)	0,068	1,15 (1,05-1,26)	0,002
Отсутствие брака (не женат / не замужем / вдова / вдовец / раздельное проживание)	1,03 (0,89-1,18)	0,694	1,09 (1,01-1,18)	0,030
Проживание в селе	0,79 (0,67-0,93)	0,005	0,91 (0,81-1,01)	0,084
Курение	1,00 (0,88-1,13)	0,944	1,18 (1,07-1,30)	<0,001
Злоупотребление алкоголем	1,30 (1,01-1,65)	0,036	1,10 (0,81-1,47)	0,539
Низкая физическая активность	1,19 (1,05-1,34)	0,006	0,94 (0,87-1,03)	0,172
Потребление соли ≥5 г в день	1,09 (0,97-1,23)	0,127	1,12 (1,04-1,22)	0,004
Потребление овощей / фруктов <400 г в день	1,22 (1,09-1,38)	<0,001	1,17 (1,08-1,28)	<0,001
Сон 5-6 часов	1,46 (1,27-1,67)	<0,001	1,39 (1,27-1,53)	<0,001

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; ОШ для каждого параметра рассчитан в модели с учетом в качестве ковариат социально-демографических показателей (пол, возраст, регион, тип поселения, УО, УД, работа, семейное положение)

В когорту проспективного наблюдения вошли 17236 человек из 11 регионов, из них умерли – 633 человека. Среди изучаемой выборки 63,5% (n=10945) человек с ХНИЗ. Осознавая важность наличия ХНИЗ для прогноза пациентов, мы провели анализ влияния ПЭС на смертность от всех причин, а также на риск развития фатальных и нефатальных сердечно-сосудистых событий (ККТ) в зависимости от анамнеза респондентов. На рисунке 1 представлены кривые выживаемости для ККТ. На рисунке видно, что кривые выживаемости участников с низким уровнем ПЭС и высоким уровнем ПЭС расходятся только в подгруппе участников с ХНИЗ. Поэтому можно сделать вывод: выраженное влияние высокого уровня ПЭС на риск наступления КТ наблюдается только у участников с ХНИЗ в анамнезе. Однако кривые выживаемости не учитывают поправок на ковариаты, что может исказить реальные ассоциации.

Для учета ковариат мы использовали многофакторные модели Кокса, результаты которых приведены в таблице 3. В модели в качестве ковариат введены следующие параметры: пол, возраст, регион, тип поселения, УО, УД, работа, семейное положение, курение, чрезмерное потребление алкоголя, сон 5-6 часов, избыточное потребление соли, низкое потребление овощей/фруктов, гиподинамия. Как мы уже отмечали, ассоциации ПЭС и КТ у мужчин и женщин можно считать одинаковыми. Отношения рисков (ОР) в таблице 3 подтверждают этот вывод: доверительные интервалы ОР для мужчин включают в себя значения ОР для женщин и наоборот. Поэтому мы сосредоточимся на описании ассоциаций для объединенной выборки. Ассоциация высокого уровня ПЭС и КТ отсутствовала у участников без ХНИЗ в анамнезе, но появлялась у участников с ХНИЗ в анамнезе. Причем отличие между ОР у участников без ХНИЗ в анамнезе и участников с ХНИЗ в анамнезе значимо в отношении ККТ (p = 0,025). Таким образом, теперь вывод о том, что выраженное влияние высокого уровня ПЭС обнаружено только у участников с ХНИЗ в анамнезе можно сделать и с учетом поправки на широкий список ковариат. Более того, переход из низкого уровня ПЭС в высокий уровень ПЭС у лиц с ХНИЗ значимо влияет на исходы (p=0,002), что отражено на рисунке 1.

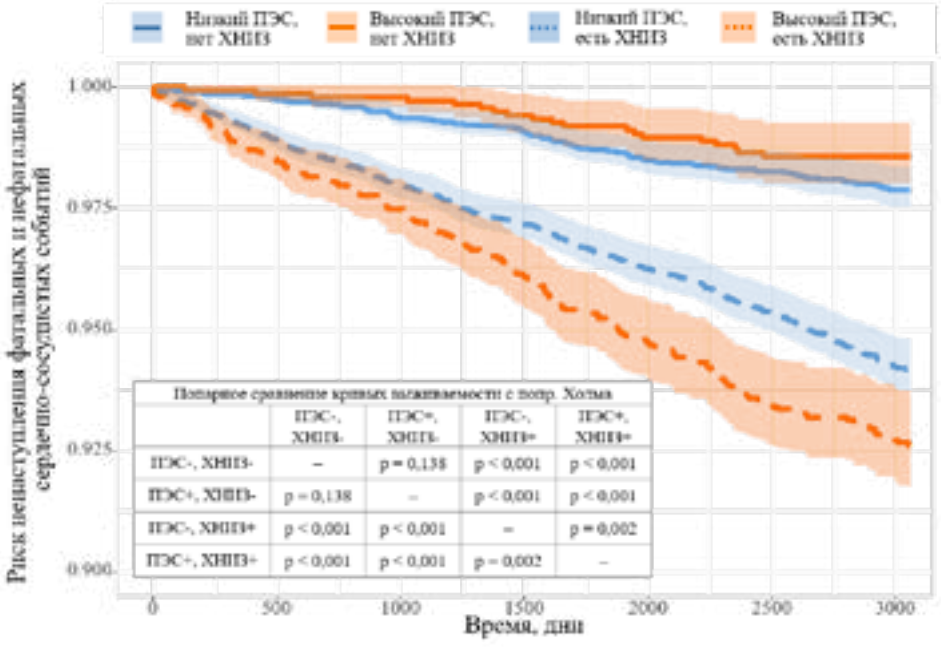
Таблица 3. Взаимодействие высокого уровня ПЭС со смертностью в зависимости от наличия ХНИЗ по данным ЭССЕ-РФ

		Общая выборка		Мужчины		Женщины	
		ОР (ДИ)	p	ОР (ДИ)	p	ОР (ДИ)	p
Общая смертность							
Выборка без ХНИЗ	Низкий и средний уровень ПЭС	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-
	Высокий уровень ПЭС	0,93 (0,58-1,47)	0,743	0,99 (0,57-1,71)	0,965	0,71 (0,29-1,79)	0,473

Выборка с ХНИЗ	Низкий и средний уровень ПЭС	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-
	Высокий уровень ПЭС	1,33 (1,09-1,63)	0,005	1,41 (1,05-1,88)	0,022	1,31 (0,99-1,72)	0,056
ККТ*							
Выборка без ХНИЗ	Низкий и средний уровень ПЭС	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-
	Высокий уровень ПЭС	0,72 (0,42-1,22)	0,224	0,82 (0,45-1,49)	0,525	0,47 (0,13-1,64)	0,237
Выборка с ХНИЗ	Низкий и средний уровень ПЭС	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-	1,00 (реф.)	-
	Высокий уровень ПЭС	**1,32# (1,10-1,57)**	**0,003**	1,26 (0,97-1,64)	0,088	1,37 (1,07-1,75)	0,013

Примечание: реф. – референс; *нефатальный ИМ и/или острое нарушение мозгового кровообращения (инсульт) и/или ССЗ-смерть; # есть значимое различие между ОР у участников без ХНИЗ и ОР у участников с ХНИЗ; ОР рассчитаны в модели с учетом следующих показателей в качестве ковариат: пол, возраст, регион, тип поселения, УО, УД, работа, семейное положение, курение, злоупотребление алкоголем, избыточное потребление соли, низкое потребление овощей и фруктов, гиподинамия, сон 5-6 часов

Рисунок 1. Кривые Каплана-Мейера (фатальные и нефатальные сердечно-сосудистые события, ККТ) в зависимости от анамнеза ХНИЗ по данным ЭССЕ-РФ



Обсуждение

Настоящая работа позволила в масштабе страны выделить группы риска высокого ПЭС и оценить вклад ПЭС в смертность среди российской популяции. Нами выявлено, что женщины испытывают больший уровень ПЭС нежели мужчины. Подобные результаты подтверждаются и

работами зарубежных авторов [4-6], что может объясняться тем, что женщины более открыто говорят о своих чувствах и переживаниях [7]. Обращает на себя внимание крайне малая корреляция Спирмена между уровнем ПЭС и возрастом: $\rho = 0{,}016$ для мужчин и $\rho = 0{,}023$ женщин ($p = 0{,}13$, $p = 0{,}01$ соответственно) несмотря на то, что с одной стороны в пожилом возрасте стресс-факторами выступают одиночество, старческая астения и мультиморбидность [8, 9], с другой стороны, согласно теории социально-эмоциональной избирательности, люди в более старших возрастных категориях предпочтительнее относятся к кругу общения [10]. Значительный вклад в формирование ПЭС отводится низкому УО и УД, а для женщин еще – безработице, что подтверждает значимость образования и финансового благополучия для снижения беспокойства в отношении своего будущего [4]. Дополнительно для женщин значение также оказывает отсутствие брака – при этом результаты зарубежных исследований подчеркнули роль семейного положения у женщин во влиянии ПЭС на наследуемость депрессивных симптомов [11]. Интересные результаты получены в отношении влияния типа поселения – проживание в сельской местности выступает защитным фактором от ПЭС, но только для мужчин. С одной стороны, сельская местность, для которой характерна меньшая урбанизация и большее количество зеленых насаждений, может влиять на снижение уровня ПЭС, однако она отличается худшим социально-экономическим уровнем, что также играет значимую роль для психоэмоционального благополучия.

Среди поведенческих ФР обращает на себя внимание значение курения для женщин в отличие от мужчин, что может объясняться большей подверженностью женской части населения к пагубному воздействию никотина [12]. Относительно злоупотребления алкоголем – важного ФР большинства ХНИЗ, мы наблюдаем связь с ПЭС только у мужчин, что опосредует деструктивную модель поведения при выраженном психоэмоциональном напряжении. Гиподинамия, распространенность которой на современном этапе составляет почти 30% в мире [13], ассоциирована с высоким уровнем ПЭС только у мужчин, что может объясняться большим значением ФА для снятия психоэмоционального напряжения именно для мужской части населения. Любопытные результаты получены в отношении нерационального питания – для женщин обнаружены ассоциации избыточного потребления соли с высоким уровнем ПЭС, что может объясняться большим влиянием на психологическое благополучие женщин курения, которое в свою очередь связано с воздействием на вкусовые рецепторы и пищевые предпочтения [14]. Относительно потребления овощей и фруктов наши данные согласуются с зарубежными работами – в китайском популяционном исследовании China Health and Nutrition Survey воспринимаемый ПЭС был связан с предпочтениями к нездоровой пище, включая низкое потребление овощей/фруктов и высокое потребление фаст-фуда и сладких напитков [15]. Сон,

важный фактор, нарушение качества которого связано со многими соматическими и психическими заболеваниями, также ассоциирован с ПЭС, при этом значима его длительность [16]. Снижение продолжительности сна (5-6 часов) обладает тесной ассоциацией с высоким уровнем ПЭС.

ПЭС оказывает значительное влияние на смертность [17], при этом наличие заболеваний – важный отягощающий фактор. Мы выявили, что наличие ХНИЗ усугубляет влияние ПЭС на прогноз, в особенности у лиц с высоким уровнем ПЭС. Так, в исследовании Arnold SV, et al в когорте пациентов с ИМ высокий уровень ПЭС (оценка по PSS-4) значимо ухудшал состояние здоровья и снижал 2-летнюю выживаемость [18], однако в нашей работе выявлено значимое влияние ПЭС только в отношении ККТ. При этом в работе японских авторов на когорте здоровых лиц подчеркивается, что для женщин связь ПЭС и смертности от ССЗ не обнаружена в отличие от мужчин, для которых риск сердечно-сосудистой смертности повышался почти в 1,5 раза (HR=1,43; 95%ДИ 1,19-1,87, p=0,006) [19]. Возможные различия могут объясняться разным дизайном исследования, а также особенностями изучаемой выборки (лица без онкологических заболеваний, ССЗ в анамнезе). Отдельное внимание заслуживает проблема вклада ПЭС в смертность в зависимости от статуса полиморбидности [20], что будет изучено на примере российской популяции в наших следующих публикациях.

Выводы

ПЭС – важный аспект психологического благополучия населения, требующий комплексного подхода путем совершенствования разных отраслей. Проведенный нами анализ позволил выявить таргетные группы населения, наиболее подверженные высокому уровню ПЭС, что в дальнейшем ляжет в основу математической модели, прогнозирующей уровень ПЭС в зависимости от популяционных характеристик. Несомненно, воздействие на такие показатели, как пол, возраст, семейное положение, УО, УД, наличие работы и тип поселения – невозможно с точки зрения системы здравоохранения, однако воздействие на поведенческие и анамнестические характеристики – осуществимо благодаря междисциплинарному подходу медицинских специалистов. Наличие ХНИЗ – важный прогностический показатель, влияющий на выживаемость, в частности, среди лиц, испытывающих высокий уровень психоэмоционального напряжения, что необходимо учитывать при проведении профилактических программ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Неинфекционные заболевания, ВОЗ [Электронный ресурс] - 2023. - URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases (дата обращения 30.01.2024).
2. Научно-организационный комитет проекта ЭССЕ-РФ. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследования//Профилактическая медицина. - 2013. - N 6 (16). - С. 25-34.
3. Cohen S., Kamarck T., Mermelstein R. A Global Measure of Perceived Stress//J Health Soc Behav. - 1983. - Vol. 24, N 4. - P. 385.
4. Klein E.M., Brähler E., Dreier M., et al. The German version of the Perceived Stress Scale – psychometric characteristics in a representative German community sample//BMC Psychiatry. - 2016. - Vol. 16, N 1. - P. 159. doi:10.1186/s12888-016-0875-9.
5. Cohen S., Williamson G. Perceived stress in a probability sample of the United States//In S. Spacapan, & S. Oskamp (Eds.), The Social Psychology of Health: Claremont Symposium on Applied Social Psychology, Newbury Park, CA: Sage, 1988. - P. 31-67.
6. Leung D.Y., Lam T. hing., Chan S.S. Three versions of Perceived Stress Scale: validation in a sample of Chinese cardiac patients who smoke//BMC Public Health. - 2010. Vol. 10, N 1. - P. 513. doi:10.1186/1471-2458-10-513.
7. Laidmäe V.I. Women in the family: the sources of stress//European journal of Health. - 2015. N 1. - P. 1-21.
8. Lin H., Xiao S., Shi L., et al. Impact of Multimorbidity on Symptoms of Depression, Anxiety, and Stress in Older Adults: Is There a Sex Difference?//Front Psychol. - 2021. N 12. - P. 762310. doi:10.3389/fpsyg.2021.762310.
9. Акарачкова Е.С., Артеменко А.Р., Беляев А.А. и др. Стрессы, коморбидность и качество жизни пожилого пациента//Трудный пациент. - 2019. N 10 (17). С. 19-27. doi:10.24411/2074-1995-2019-10070.
10. Carstensen LL. Socioemotional Selectivity Theory: The Role of Perceived Endings in Human Motivation//Gerontologist. 2021. - Vol. 61, N 8. P. 1188-96. doi:10.1093/geront/gnab116.
11. Beam C.R., Dinescu D., Emery R., et al. A Twin Study on Perceived Stress, Depressive Symptoms, and Marriage//J Health Soc Behav. 2017. - Vol. 58, N 1. P. 37-53. doi:10.1177/0022146516688242.
12. Back S.E., Waldrop A.E., Saladin M.E., et al. Effects of gender and cigarette smoking on reactivity to psychological and pharmacological stress provocation//Psychoneuroendocrinology. - 2008. Vol. 33, N 5. - P. 560-8. doi:10.1016/j.psyneuen.2008.01.012.

13. Global status report on physical activity 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
14. Ma J., Lee Y.K. Examining the Association between Cigarette Smoking Quantity and Subjective Salt Taste Preference and Salt-Related Eating Behavior//Korean J Fam Med. - 2023. Vol. 44, N 6. - P. 335-41. doi:10.4082/kjfm.23.0027.
15. Yang F., Li R., Ren X., et al. Association Between Perceived Levels of Stress and Self-Reported Food Preferences Among Males and Females: A Stated Preference Approach Based on the China Health and Nutrition Survey//Front Public Health. - 2022. Vol. 10. - P. 850411. doi:10.3389/fpubh.2022.850411
16. Kim H.J., Oh S.Y., Joo J.H., et al. The Relationship between Sleep Duration and Perceived Stress: Findings from the 2017 Community Health Survey in Korea//Int J Environ Res Public Health. - 2019. Vol. 16, N 17. - P. 3208. doi:10.3390/ijerph16173208.
17. Redmond N., Richman J., Gamboa C.M., et al. Perceived Stress Is Associated With Incident Coronary Heart Disease and All-Cause Mortality in Low- but Not High-Income Participants in the Reasons for Geographic And Racial Differences in Stroke Study//J Am Heart Assoc. - 2013. Vol. 2, N 6. - P. e000447. doi:10.1161/JAHA.113.000447.
18. Arnold S.V., Smolderen K.G., Buchanan D.M., et al. Perceived stress in myocardial infarction: long-term mortality and health status outcomes//J Am Coll Cardiol. - 2012. Vol. 60, N 18. - P. 1756-1763. doi:10.1016/j.jacc.2012.06.044.
19. Kowata E., Hozawa A., Kakizaki M., et al. [Perceived stress and cardiovascular disease mortality. The Ohsaki Cohort Study] [Nihon kōshū eisei zasshi]//Japanese journal of public health. - 2012. Vol. 59, N 2. - P. 82-91.
20. Prior A., Fenger-Grøn M., Larsen K.K., et al. The Association Between Perceived Stress and Mortality Among People With Multimorbidity: A Prospective Population-Based Cohort Study//Am J Epidemiol. - 2016. Vol. 184, N 3. P. 199-210. doi:10.1093/aje/kwv324.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ШТАММОВ - ПРОДУЦЕНТОВ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОИНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА

З.Г. Гурэу

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14

Резюме. В последние годы оценка безопасности штаммов, продуцирующих пищевые ингредиенты, претерпела революцию благодаря применению современного биоинформационного анализа. Этот подход предлагает всестороннее и углубленное изучение микроорганизмов, используемых в производстве пищевых продуктов, что позволяет более тщательно оценить их профили безопасности. Используя передовые вычислительные инструменты и аналитику данных, исследователи и эксперты по безопасности пищевых продуктов могут выявлять потенциальные риски и обеспечивать производство безопасных и высококачественных пищевых ингредиентов. В этой статье рассмотрены современные подходы к оценке безопасности штаммов, продуцирующих пищевые ингредиенты, с использованием биоинформатического анализа, проливающего свет на инновационные методы и технологии, которые определяют будущее оценки безопасности пищевых продуктов.

Ключевые слова. *Пищевые ингредиенты, ферментные препараты, микробный синтез, ГММ, штамм - продуцент, геномный анализ, полногеномное секвенирование, WGS, биоинформатика, оценка безопасности.*

Введение. Пищевые ингредиенты, полученные в результате микробного синтеза, такие как ферментные препараты, подсластители, витамины, органические кислоты, стабилизаторы, загустители и аминокислоты, являются неотъемлемой частью современных процессов в пищевой промышленности[1]. Более 90 % такой продукции производится с использованием генно - инженерно - модифицированных (ГММ) и мутантных микроорганизмов. Наиболее используемые микроорганизмы при промышленном производстве пищевых ингредиентов являются плесневые грибы (60%), дрожжеподобные грибы (4%), бактериальные культуры (24%) и стрептомицеты (2%). Использование методов генной инженерии и направленного мутагенеза приводит к изменению последовательности нуклеотидов ДНК и РНК, что сопряжено с изменением фенотипических свойств исходного организма, что, несомненно, может негативно отразиться на качестве и безопасности производимой пищевой продукции [2].

В настоящее время, на рынках России и Евразийского экономического союза представлены, в основном, зарубежные штаммы микроорганизмов. В этой связи было выдвинуто ряд инициатив, направленных на продвижение отечественных генетических технологий и их продуктов при применении в российской промышленности и сельском хозяйстве, с целью реализации полного цикла производства внутри страны по ряду важнейших продуктов, в том числе фармацевтических субстанций для лекарственных средств, вакцин, кормов и т.д. Например, в мае 2022 года в Государственную Думу Российской Федерации был внесен проект федерального закона "О внесении изменений в Федеральный закон "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" №134176-8 (https://sozd.duma.gov.ru/bill/134176-8), принятие которого будет способствовать расширению научных исследований в области обеспечения контроля за оборотом генно-инженерной продукции на территории Российской Федерации. Для укрепления биологической безопасности страны необходимо создание условий гарантированного и стабильного сохранения уникальных биологических коллекций, их устойчивого, рационального использования в научной и научно-технической деятельности. В этом направлении был разработан проект федерального закона № 325647-8 «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях» (внесен Комитетом по науке и высшем образованию Государственной Думы).

В соответствии с [4], технологические микроорганизмы определяются как «чистые культуры непатогенных, нетоксигенных микроорганизмов с установленной родовой и видовой (штаммовой) принадлежностью используемые для производства пищевой продукции, служащие источниками (продуцентами) пищевых веществ, пищевых добавок, ароматизаторов или ферментов». Оценка их безопасности включает требования к однозначной идентификации таксономической принадлежности штамма до уровня вида, отсутствия факторов вирулентности, токсигенности и антибиотикоустойчивости. Вместе с тем, как отмечено в работе [2], система оценки рисков и подтверждения соответствия установленным требованиям промышленных штаммов-продуцентов и пищевой продукции микробного синтеза нуждается в значительной доработке, а используемые при этом методы в актуализации.

В современной практике, ведущим направлением исследований для обеспечения биобезопасности пищевой продукции являются методы анализа нуклеотидных последовательностей геномов [5]. При этом, технологии секвенирования и биоинформационного анализа все чаще находят применение и в области токсиколого - гигиенической оценки производственных штаммов пищевых ингредиентов [6 - 8].

Вместе с тем, в свете быстрых изменений в области секвенирования, отсутствуют стандартизированные процедуры получения и анализа данных WGS, которые могли бы применяться универсально ко всем объектам. Исходя из этого была выявлена необходимость изложить в данной работе принципы и подходы, которые должны быть учтены при организации и представлении анализа на основе WGS в рамках оценки безопасности производственных штаммов.

Цель исследования - обоснование необходимости включения биоинформационного анализа данных полногеномного секвенирования (WGS) в систему оценки безопасности штаммов - продуцентов пищевых ингредиентов.

Материалы и методы. Поиск литературы по теме работы (современное производство пищевых ингредиентов, место микробного синтеза и геномного анализа в оценке безопасности производственных штаммов, а также анализ современных инструментов биоинформатики), проводился с использованием Web of Science, Scopus, PubMed, РИНЦ, сборников Всемирной организации здравоохранения, Европейского агентства по безопасности пищи и др.

Результаты и обсуждения

Секвенирование ДНК штаммов и контроль качества данных

Секвенирование представляет собой метод определения нуклеотидной последовательности, позволяющий получить первичную. структуру линейной макромолекулы в виде последовательности мономеров (нуклеотидов). В настоящее время на мировом рынке представлены различные платформы NGS производителей: Roche (Швейцария), Illumina (США), Life Technologies (США), которые используют следующие подходы: секвенирование путем синтеза (Sequencing by Synthesis -SBS) и секвенирование путем лигирования (Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection - SOLiD). [10] В результате WGS создается большой массив данных, которые требуют автоматизации процесса обработки с помощью вычислительной техники и инструментами биоинформатики.

Процесс первичной обработки данных включает следующие основные шаги: оценка качества «сырых» чтений, фильтрация низкокачественных последовательностей и исправление ошибок [10]. На этапе фильтрации из набора данных удаляются последовательности низкого качества и артефакты секвенирования (остатки адаптеров) с использованием инструмента FastQC[1] [11] и Trimmommatic[2] [12]. Для оценки качества

[1] Текстовый формат данных, используемый для представления нуклеотидной последовательности и показателей качества каждого элемента последовательности.

[2] Способ визуального представления данных, полученных с помощью РНК-секвенирования

секвенирования следует оценивать показатель Phred Quality Scores (Q), который логарифмически связан с вероятностью P ошибочного определения нуклеотида (Q= -10 lgP). Для определения достоверности результатов следует учитывать показатель Q20. Отчет о качестве данных должен быть представлен в виде статистических данных (диапазон длин чтений, количество чтений, содержание GC и т.д.), а также диаграммы, представляющие количественные показатели общего качества данных.

Сборка генома

Для сборки генома могут быть использованы два различных подхода: сборка *de novo* или картирование считывания на референсный геном. Программы для сборки генома (ассемблеры) используют разные алгоритмы и основаны (1) на перекрытии последовательностей (overlap-layout-consensus) (рекомендованы для сборки длинных чтений) и (2) на графах де Брейна (de Bruijn Graph) (применяются для коротких фрагментов, получаемых при секвенировании на платформах NGS) [10].

Процесс сборки на основе картирования чтений осуществляется с использованием референсного (эталонного) генома, извлеченного из открытой базы данных (например NCBI Genome https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/). Для выравнивания и сборки коротких чтений по отношению к референсному геному используются такие программы, как Clustal, MAQ (Mapping and Assembly with Quality) [13], BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [14], MUSCLE (MUltiple Sequence Comparison by Log-Expectation) [15], MAFFT (multiple alignment using fast Fourier transform) [16] и др. Для сборки геномов *de novo* используются такие программные обеспечения, как MIRA [17], Velvet [18], SPADEs (St. Petersburg genome assembler)[19] и др.

С целью подтверждения качества сборок *de novo* необходимо предоставить подробную информацию об используемом программном обеспечении (ассемблера). Размер собранного генома должен соответствовать следующим параметрам: общее количество контигов <500 для бактерий и <1000 для дрожжей и нитчатых грибов. Необходимо сообщить параметры сборки и предоставить обоснование, если размер сборки составляет ± 20 % от ожидаемого значения. Для геномов эукариот качество сборки должно оцениваться с использованием QUAST (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies) [20] и инструмента кластеризации однокопийных ортологов BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) [21].

Идентификация микроорганизмов

Таксономическая идентификация на уровне вида является важнейшим требованием оценки производственных штаммов - продуцентов пищевых ингредиентов [22]. Вместе с

тем, для идентификации микробных и эукариоческих штаммов применяются разные подходы.

В настоящее время таксономическая классификация прокариот основывается на последовательности генов 16S рРНК, которые повсеместно присутствуют и высококонсервативны (то есть остаются относительно неизменимы на протяжении длительного времени). Однако, когда уровень идентичности видов составляет более ≥ 99% идентификация на основании региона 16S рРНК недостаточна. В таких случаях рекомендуется использовать методы цифровой гибридизации ДНК - ДНК, средней нуклеотидной идентичности (ANI - The Average Nucleotide Identity) или филогеномных методах с использованием дополнительных консервативных генов [23 - 25].

Для дрожжей и нитчатых грибов предпочтителен филогенетический анализ [22]. Следует отметить, что идентификация грибов является сложной задачей. В связи с этим в литературе представлены множество примеров неправильной таксономической классификации. Традиционно идентификация грибов основывалась на анализе фенотипических, физиологических характеристик и последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS). Однако, использование маркера ITS может оказаться недостаточным при дискриминации видов в некоторых кладах грибов: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Talaromyces*. У представителей этих родов кодирующие белок гены имеют более высокую межвидовую изменчивость, чем область ITS и являются предпочтительными для включения в анализ. Например, области генов большой и малой субъединиц РНК - полимеразы (*RPB1*, *RPB2*), бета-тубулин *(BenA*) и частичный ген кальмодулин (*CaM*) должны использоваться для установления филогенетических связей между представителей грибов Eurotiales, которые включают роды *Aspergillus* и *Penicillium*, два из наиболее важных грибов с промышленной точки зрения[25 - 28].

При сравнении очень схожих последовательностей, наиболее достоверные результаты дают программы, основанные на подходах maximum likelihood (наибольшего подобия) или maximum parsimony (максимальной экономии) [9]. Программа MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) – MEGA11, является наиболее популярным инструментом в филогенетических исследованиях и построении филогенетического дерева исследуемых микроорганизмов [29].

Аннотация генома и идентификация генов риска

Аннотация генома представляет собой определение (предсказание) совокупности всех биологически значимых особенностей в последовательности генома и включает два этапа: структурную и функциональную аннотацию. Первое относится к предсказанию структурных элементов, таких как гены, кодирующие белки, сигнальные пептиды и

некодирующие РНК (нкРНК). Примерами биоинформатических инструментов для предсказания бактериальных генов являются программы Prodigal (Prokaryotic Dynamic Programming Genefinding Algorithm) [30] и Glimmer (Gene Locator and Interpolated Markov ModelER) [31]. Структурная аннотация геномов эукариот, таких как дрожжи и грибы, является более сложной задачей, поскольку сплайсинг транскриптов усложняет точную идентификацию интрон - экзонных структур. Обычно используемые инструменты включают MAKER [32, 33] и AUGUSTUS [34], которые предоставляют модели генов, обученные для нескольких промышленно важных организмов, таких как виды *Aspergillus*, *Saccharomyces* и *Candida*.

Функциональная аннотация подразумевает присвоение биологических функций предсказанным генам на основе характеристики *in silico*. В этом направлении преобладают методы, основанные на гомологии последовательностей, такие как Blast SWISS-PROT. Дополнительная функциональная характеристика включает в себя определение онтологии гена (GO - https://geneontology.org/), пути KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes - https://www.kegg.jp/), факторов вирулентности, устойчивость к антибиотикам (например, CARD - The Comprehensive Antibiotic Resistance Database [35]) и кластеры генов биосинтеза вторичных метаболитов (например, анти-SMASH [36]).

При поиске генов устойчивости к противомикробным препаратам следует использовать по крайней мере две базы данных и сообщать о совпадениях последовательности запроса с идентичностью не менее 80% и длиной исследуемой последовательности не менее 70%. Данные о структуре генов лекарственной устойчивости штаммов бактерий, полученные с использованием WGS, необходимо сопоставлять с профилем антибиотикорезистентности, определенным традиционными методами (метод дисков или метод диффузии в агар), так как наличие мутации в гене не всегда сопровождается изменением фенотипических свойств микроорганизма. В связи с этим использование WGS в качестве единственного диагностического теста определения устойчивости целесообразно в тех случаях, когда имеется полная информация о соответствии фенотипических и генетических признаков микроорганизма [37]. Для факторов вирулентности применяются те же пороговые значения.

Заключение. Анализ данных полногеномного секвенирования с использованием современных инструментов биоинформатики должен быть включен в стандартную методологию оценки безопасности штаммов - продуцентов пищевых ингредиентов. Внедрение данных подходов в систему оценки и контроля безопасности продукции нового вида позволит оценить потенциальные риски, ассоциированные с мутантными и ГМ - штаммами. Система оценки рисков и подтверждения соответствия установленным

требованиям промышленных штаммов-продуцентов нуждается в дополнении путем внедрения новых методов анализа (ПЦР методов, методов секвенирования ДНК, РНК, методов клеточных технологий (*in vitro*), биоинформационного анализа), разработкой нормативной документации, а также методов анализа безопасности, разработанных с учетом международных подходов. Без сомнения, законодательное регулирование в данной сфере повысит эффективность межотраслевой интеграции научно-технической и экономической деятельности по созданию конкурентоспособных биотехнологий для отечественного агропромышленного комплекса и пищевой индустрии. Вместе с тем, наряду с созданием отечественных биологических (биоресурсных) коллекциях, перспективным направлением представляется создание электронной базы данных нуклеотидных последовательностей геномов штаммов - продуцентов, использованных в пищевой промышленности на территории Российской Федерации и Евразийской экономической комиссии (ЕАЭС) для обеспечения прозрачности оборота такой продукции с целью обеспечения здоровья населения.

Финансирование. Работа по подготовке рукописи проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания по теме № 0410-2022-0003 «Разработка комплексной системы оценки безопасности пищевых ингредиентов, биологически активных веществ и пищевой продукции нового вида, полученной из нетрадиционных и новых источников».

Благодарности. За помощь в подготовке материала автор выражает своё почтение и благодарность научному руководителю д.б.н. О.В. Багрянцевой.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. A. Augustin, Carol J. Hartley, Gregory Maloney & Simone Tyndall Innovation in precision fermentation for food ingredients // Critical Reviews in Food Science and Nutrition - 2023. DOI: 10.1080/10408398.2023.2166014

2. Багрянцева О.В. Обоснование необходимости разработки мероприятий по управлению рисками, связанными с использованием пищевой продукции, производимой при помощи микробного синтеза // Вопросы питания - 2020. - Т 89. - № 2. С 64-76. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10017

3. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции (с изменениями на 25 ноября 2022 года)

4. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств (с изменениями №2. Утверждены Решением №84 Совета Евразийской экономической комиссии от 29.08.2023.)

5. Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Перспективные молекулярно-генетические методы секвенирования микроорганизмов в системе оценки и контроля биобезопасности пищевой продукции // Вопросы питания - 2022. -Т. 91. - № 1. С. 37–52. DOI: https://doi. org/10.33029/0042-8833-2022-91-1-37-52

6. Taboada Eduardo N., Graham Morag R., Carriço João A., Van Domselaar Gary Food Safety in the Age of Next Generation Sequencing, Bioinformatics, and Open Data Access // Frontiers in Microbiology - 2017. -Vol.8. DOI=10.3389/fmicb.2017.00909

7. Karaseva, Olga, Georgii Ozhegov, Dilyara Khusnutdinova, Maria Siniagina, Elizaveta Anisimova, Farida Akhatova, Rawil Fakhrullin, and Dina Yarullina Whole Genome Sequencing of the Novel Probiotic Strain *Lactiplantibacillus plantarum* FCa3L // *Microorganisms*. - 2023. - Vol. 11. - No. 5. P 1234. https://doi.org/10.3390/microorganisms11051234

8. Adalberto Costessi, Bartholomeus van den Bogert et al. Novel sequencing technologies to support industrial biotechnology // *FEMS Microbiology Letters*. - 2018. - Vol. 365.

9. Методические указания МУ 2.3.2.1935–04 «Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из / или с использованием генетически модифицированных микроорганизмов и микроорганизмов, имеющих генетически модифицированные аналоги». – М., 2004. – 45 с.

10. Алексеева Анна Евгеньевна, Бруснигина Нина Федоровна Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями // Журнал МедиАль.- 2014. №2 (12). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnosti-i-perspektivy-primeneniya-metodov-massivnogo-parallelnogo-sekvenirovaniya-v-diagnostike-i-epidemiologicheskom-nadzore-za (дата обращения: 27.01.2024).

11. Andrews, S. (n.d.).FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/

12. Anthony M. Bolger, Marc Lohse, Bjoern Usadel, Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics*. - 2014. Vol.30. P. 2114 -2120.

13. Jackman, S. D., Vandervalk, B. P., Mohamadi, H., Chu, J., Yeo, S., Hammond, S. A., Jahesh, G., Khan, H., Coombe, L., Warren, R. L., & Birol, I. ABySS 2.0: resource-efficient assembly of large genomes using a Bloom filter. // Genome Research. - 2017. Vol. 27(5). P.768–777

14. Simpson, J. T., Wong, K., Jackman, S. D., Schein, J. E., Jones, S. J. M., & Birol, I. ABySS: A parallel assembler for short read sequence data // *Genome Research*. - 2009. - Vol. *19*(6). P. 1117–1123

15. Walker, B. J., Abeel, T., Shea, T., Priest, M., Abouelliel, A., Sakthikumar, S., Cuomo, C. A., Zeng, Q., Wortman, J., Young, S. K., & Earl, A. M. Pilon: An Integrated Tool for Comprehensive Microbial Variant Detection and Genome Assembly Improvement// *PLoS ONE* - 2014. - Vol. *9*(11). P.e112963

16. Seemann, T. *Shovill: Faster SPAdes assembly of Illumina reads*.

17. Costa G., Di Piazza G., Koevoets P. et al. Guidelines for reporting Whole Genome Sequencing-based typing data through the EFSA One Health WGS System// EFSA Supporting publication - 2022. P. EN-7413

18. Silano V., Baviera J._e M.B., Bolognesi C. et al. Characterisation of microorganisms used for the production of food enzymes // EFSA Journal. - 2019. Vol. 17(6). P. 5741

19. Aggett P., Aguilar F., Crebelli R. et al. Guidance on safety evaluation of sources of nutrients and bioavailability of nutrient from the sources // EFSA Journal - 2018. Vol. 16. N 6. Article ID 5294. 35 p.

20. Lücking R., Aime M. C., Robbertse B. et al. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? // IMA Fungus - 2020. - P.11-14

21. Cho A. Constructing Phylogenetic Trees Using Maximum Likelihood // Scripps Senior Theses - 2012 Paper 46., 58 p. http://scholarship.claremont.edu/scripps_theses/4

22. Lin Y. Maximum Likelihood Phylogenetic Reconstruction from High-Resolution Whole-Genome Data and a Tree of 68 Eukaryotes // Pacific Symposium of Biocomputing - 2013. P. 285–296

23. Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordonez A. et al. Scientific Opinion on the update of the list of QPS recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA (2017–2019) // EFSA Journal - 2020. - Vol. 18(2). - P.5966

24. Korotetskiy I.S., Shilov S.V. , Kuznetsova T. et al. Analysis of Whole-Genome Sequences of Pathogenic Gram-Positive and Gram-Negative Isolates from the Same Hospital Environment to Investigate Common Evolutionary Trends Associated with Horizontal Gene Exchange, Mutations and DNA Methylation Patterning // Microorganisms - 2023. - Vol. 11. P. 323

25. Visagie C. M., Houbraken J., Frisvad J. C., Hong S. B., Klaassen C. H., Perrone G., Seifert K. A., Varga J., Yaguchi T., Samson R. A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. // *Study of Mycol*ogy - 2014. - Vol. 78. P. 343–371.

26. Stielow J. B., Lévesque C. A. , Seifert K. A., Meyer W., Iriny L., Smits D. et al. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes // *Persoonia* - 2015. - Vol. 35. P. 242–263.

27. Houbraken J., Kocsubé S., Visagie C. M., Yilmaz N., Wang X. C., Meijer M., Kraak B., Hubka V., Bensch K., Samson R. A., Frisvad J. C. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. // *Study in Mycoogy* - 2020. - Vol. 95. P. 5–169.

28. Samson R .A., Visagie C. M., Houbraken J., Hong S. B., Hubka V., Klaassen C. H., Perrone G., Seifert K.A., Susca A., Tanney J. B., Varga J., Kocsube S., Szigeti G., Yaguchi T., Frisvad J. C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus* // *Study in Mycology. - Vol.* 78. P.141–173.

29. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. // Molecular Biology and Evolution - 202. - Vol. 38(7). P. 3022-3027

30. Hyatt, D., Chen, G. L., LoCascio, P.F. *et al.*Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification // *BMC Bioinformatics* - 2009. - Vol. 11. P. 119

31. Delcher, A. L., Bratke, K. A., Powers, E. C., & Salzberg, S. L. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer // *Bioinformatics* - 2007. - Vol. *23*(6). P.673–679

32. Holt, C., & Yandell, M. MAKER2: an annotation pipeline and genome-database management tool for second-generation genome projects // *BMC Bioinformatics* - 2011. - Vol. *12*(1)

33. Campbell, M. S., Holt, C., Moore, B., & Yandell, M. Genome Annotation and Curation Using MAKER and MAKER-P. // *Current Protocols in Bioinformatics* - 2014. - Vol. *48*(1)

34. Keller, O., Kollmar, M., Stanke, M., & Waack, S. A novel hybrid gene prediction method employing protein multiple sequence alignments // *Bioinformatics - 2011.*

35. Alcock *et al*. CARD 2023: Expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database // Nucleic Acids Research - 2023. - Vol. 51. P. D690 - D69

36. Kai Blin, Simon Shaw, Hannah E Augustijn, Zachary L Reitz et al. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures, and visualization *// Nucleic Acids Research* - 2023

37. Koser C.U., Ellington M.J., Cartwright E.J.P. et al. Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology // PLoS Pathogen. - 2012. - Vol. 8. No 8. P. 1–9

Автор статьи:

Гурэу Зинаида Генныдиевна - аспирант лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

E-mail: gurzinaida1395@gmail.com, тел. 8-495-698-53-68

https://orcid.org/0000-0002-0015-8735

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОБМЕНА АДИПОКИНОВ И АНДРОГЕНОВ В ОЦЕНКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У РАБОТНИКОВ ЭЛЕКТРОСЕТЕВЫХ ОБЪЕКТОВ

А.А. Кислякова, А.Г. Хотулева

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», г. Москва, Россия

Обоснование. Сердечно-сосудистые заболевания являются главной причиной смертности и инвалидизации, что представляет серьезную проблему общественного здравоохранения из-за возрастающих экономических издержек. Внедрение методологии персонифицированного, предиктивного и пациентоориентированного подходов в практику медицины труда, предоставляет дополнительные возможности выявления имеющейся тенденции к развитию патологических состояний. ***Цель исследования.*** выявление информативных молекулярно-генетических маркеров риска развития метаболических нарушений, ассоциированных с сердечно-сосудистой патологией, у работников электросетевых объектов. ***Методы.*** Проведено лабораторное обследование работников электросетевых объектов, подвергающихся воздействию электрического и магнитного полей промышленной частоты, включающее исследование показателей, углеводного и липидного обменов, полиморфных вариантов генов адипокинов (LEP G2548A (rs7799039)) и их рецепторов (LEPR A668G (rs1137101); ADIPOR2 G795A (rs16928751)) и глобулина, связывающего половые гормоны (SHBG (rs12150660)). ***Результаты.*** Выявлена ассоциация минорной аллели T гена SHBG с развитием ожирения (ОШ = 2,593; 95% ДИ: 1,236 – 5,441; p=0,012) и генотипа TT гена SHBG с низким уровнем липопротеидов низкой плотности (ЛПВП). Шансы развития ожирения при наличии аллели G гена LEP были ниже в 2,394 раза (ОШ = 0,418; 95% ДИ: 0,187 – 0,931, p = 0,03). Гомозиготный вариант GG гена LEPR ассоциирован с более низким уровнем ЛПВП (p = 0,041) и гипертриглицеридемией (p = 0,036), а также с развитием абдоминального ожирения (95% ДИ: 1,058 – 4,495; p = 0,033). Гомозиготный вариант GG гена ADIPOR2, ассоциирован с гипергликемией и высоким уровнем ЛПНП (p = 0,023; p = 0,032, соответственно). ***Заключение.*** Выделены информативные молекулярно-генетические маркеры (ADIPOR2 (rs16928751), LEP (rs7799039) и LEPR (rs1137101) и SHBG (rs12150660)), применение которых может использоваться для оптимизации профилактических мероприятий у работников электросетевых объектов.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, липиды, ожирение, абдоминальное ожирение, оценка сердечно-сосудистого риска

GENETIC MARKERS OF ADIPOKINE AND ANDROGEN METABOLISM IN ASSESSING THE RISK OF METABOLIC DISORDERS IN EMPLOYEES OF ELECTRIC GRID FACILITIES

A.A. Kisljakova, A.G. Khotuleva

FSBSI "Izmerov Research Institute of Occupational Health", Moscow, Russia

Laboratory markers in the assessment of cardiovascular risk in occupational exposure to lead

Background:: Cardiovascular diseases are the main cause of death and disability, which poses a serious public health problem due to the increasing economic costs. The introduction of the methodology of personalized, predictive and patient-oriented approaches into the practice of occupational medicine provides additional opportunities to identify the existing trend towards the development of pathological conditions. ***Aims:*** identification of informative molecular genetic markers of the risk of developing metabolic disorders associated with cardiovascular pathology in employees of electric grid facilities. ***Materials and methods:*** A laboratory examination of employees of electric grid facilities exposed to high-frequency electric and magnetic fields was conducted, including a study of indicators, carbohydrate and lipid metabolism, polymorphic variants of adipokine genes (LEP G2548A (rs7799039)) and their receptors (LEPR A668G (rs1137101); ADIPOR2 G795A (rs16928751)) and sex hormone binding globulin (SHBG (rs12150660)). ***Results:*** The association of the minor T allele of the SHBG gene with the development of obesity (OR = 2.593; 95% CI: 1.236 – 5.441; p=0.012) and the TT genotype of the SHBG gene with low levels of low-density lipoproteins (HDL) was revealed. The chances of developing obesity in the presence of the G allele of the LEP gene were 2.394 times lower (OR = 0.418; 95% CI: 0.187 – 0.931, p = 0.03). The homozygous GG variant of the LEPR gene is associated with lower HDL levels (p = 0.041) and hypertriglyceridemia (p = 0.036), as well as with the development of abdominal obesity (95% CI: 1.058 – 4.495; p = 0.033). The homozygous GG variant of the ADIPOR2 gene is associated with hyperglycemia and high LDL levels (p = 0.023; p = 0.032, respectively). ***Conclusions:*** Informative molecular genetic markers (ADIPOR2 (rs16928751), LEP (rs7799039) and LEPR (rs1137101) and SHBG (rs12150660)) have been identified, which can be used in the system of preventive measures for employees of electric grid facilities.

Keywords: genetic polymorphism, lipids, obesity, abdominal obesity, cardiovascular risk assessment

Обоснование. Развитие ССЗ занимает достаточно длительное время, что требует разработки адекватной стратегии прогнозирования сердечно-сосудистых событий с целью их своевременного предотвращения. За последнее время было создано множество статистических подходов и различных моделей прогнозирования заболеваний с

использованием ряда предикторов [1]. Разрабатываются и успешно применяются диагностические панели и модели прогнозирования заболеваний, ориентированные на конкретные группы населения. Данные модели интегрируют новые предикторы с целью повышения прогностической способности. В медицине труда применение подобных моделей является весьма актуальным среди групп населения, подвергающихся воздействию вредных и опасных производственных факторов, способных потенцировать кардиоваскулярный риск. К подобным факторам относятся электрические и магнитные поля (ЭП и МП) промышленной частоты (ПЧ) [2,3]. Данный физический фактор является одним из наиболее часто встречаемых факторов электромагнитной природы на рабочем месте. Расширение спектра предикторов сердечно-сосудистой патологии вносит существенный вклад для прогностической стратификации, прогнозирования риска заболеваний и своевременного лечения наиболее уязвимого контингента.

Исследования показывают, что повысить прогностическую ценность традиционных моделей могут показатели генетического риска, особенно для контингента, который уже находится в группе риска развития патологического процесса. В рамках полногеномного анализа ассоциаций выявлено множество однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов, участвующих в регуляции энергетических процессов, их связь с ожирением, повышенным индексом массы тела, риском развития сахарного диабета второго типа и сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Раскрытие генетических детерминант, связанных с развитием метаболического синдрома, абдоминального ожирения, нарушением углеводного и липидного обменов, ассоциированных с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, позволит выявить группы высокого риска сердечно-сосудистых заболеваний, оценить качественные и количественные изменения метаболитов при воздействии вредных и опасных производственных факторов на фоне разных генотипов, проводить своевременное лечение и осуществлять эффективную профилактику метаболических нарушений и их осложнений.

Доказано, что нарушение обмена углеводов, липидов и адипокинов лежит в основе развития метаболического синдрома, в связи с чем, особого внимания заслуживают гены адипокинов и их рецепторов: ADIPOR2 (rs16928751), LEP (rs7799039) и LEPR (rs1137101). Кроме того, особый интерес представляют гены, отвечающие за регуляцию уровней половых гормонов, изменение концентраций которых рассматривается в качестве кардиометаболического риска [5]. Низкие уровни андрогенов связывают с развитием артериальной гипертензии, дислипидемии и нарушением электрофизиологии сердца [6]. В связи с этим, интерес представляет ОНП, ассоциированный со сниженной концентрацией общего тестостерона - rs12150660 SHBG. Изучение роли генетической предрасположенности поможет расширить представление о патогенетических механизмах развития патологических

процессов и разработать эффективные профилактические стратегии, способные снизить бремя заболеваемости и смертности от ССЗ среди трудоспособного населения.

Цель исследования: выявление информативных молекулярно-генетических маркеров риска развития метаболических нарушений, ассоциированных с сердечно-сосудистой патологией, у работников электросетевых объектов, подвергающихся воздействию ЭП и МП ПЧ.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 144 мужчины - работники электросетевых объектов. Средний возраст обследованных составил 48 (43; 57) лет. Обследованные представлены следующими профессиями: электромонтеры по ремонту кабельных линий электропередачи, электрослесари ремонтной службы подстанций, электромонтеры службы релейной защиты и автоматики, электромонтеры линейной службы, электромонтеры оперативно-выездной бригады и электромонтеры по ремонту воздушных линий электропередачи. Основными вредными факторами являлись: воздействие электрического и магнитного полей промышленной частоты (50 Гц) и выполнение работ, связанных с техническим обслуживанием электроустановок [7].

У обследованных определяли уровни показателей углеводного (глюкоза, инсулин) и липидного (общий холестерин (ОХ), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), триглицериды) обменов. Проведен расчет индекса инсулинорезистентности HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) по формуле: HOMA-IR = (инсулин натощак х глюкоза натощак) / 22,5 и расчет индекса атерогенности (ИА) по формуле: ИА = (ОХ – ЛПВП) / ЛПВП [8].

Исследование антропометрических данных включало измерение роста, массы тела и расчет индекса массы тела (ИМТ). Кроме расчета ИМТ в рамках исследования проводилось измерение окружности талии с помощью сантиметровой ленты в средней точке между нижним краем реберной дуги и верхней части гребня подвздошной кости. У мужчин значение окружности талии более 94 см указывает на наличие абдоминального ожирения. С целью дополнительной оценки сердечно-сосудистого риска у обследованных определяли наличие метаболического синдрома (МС). Постановка МС проводилась в соответствии с критериями Американской ассоциации клинических эндокринологов (AACE, 2003 г.) [9]. Функциональное обследование включало измерение диастолического и систолического артериального давления.

Проведено исследование ОНП генов адипокинов (LEP G2548A (rs7799039)) и их рецепторов (LEPR A668G (rs1137101); ADIPOR2 G795A (rs16928751)) и глобулина, связывающего половые гормоны (SHBG (rs12150660)). Исследование комплекса полиморфизмов, которые могут потенцировать негативное воздействие ЭП и МП ПЧ,

проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции «в режиме реального времени». Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы StatTech v.3.1.10 (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

Результаты собственных исследований. При анализе распределения уровней липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в зависимости от варианта генотипа SHBG были выявлены статистически значимые различия (p = 0,044 относительно группы GT) (рисунок 1).

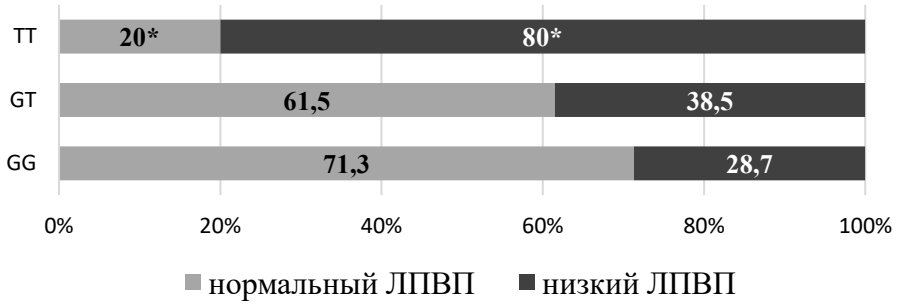


Рисунок 1. Анализ уровня ЛПВП в зависимости от генотипа SHBG

Примечание: * - p < 0,05

При анализе наличия доказанных факторов риска развития ССЗ – артериальной гипертензии и метаболического синдрома – в зависимости от вариантов генотипов SHBG статистически значимых различий выявить не удалось (p = 0,819, p = 0,819 соответственно). Кроме артериального давления и МС был изучен вклад rs12150660 SHBG в развитие одного из главных факторов риска развития ССЗ - ожирения. При анализе распределения генотипов в зависимости от ожирения, были выявлены существенные различия (p = 0,023 относительно группы GT) (рисунок 2). Шансы развития ожирения при наличии аллели T гена SHBG были выше в 2,593 раза. Различия шансов статистически значимы (ОШ = 2,593; 95% ДИ: 1,236 – 5,441; p=0,012).

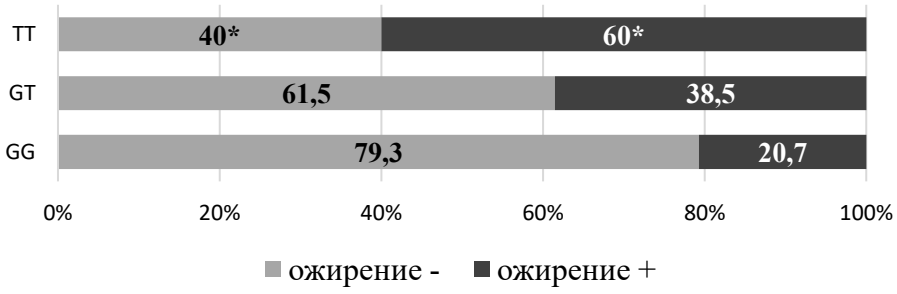


Рисунок 2. Частота встречаемости ожирения в зависимости от ОНП гена SHBG

Примечание: * - p < 0,05

Наличие полиморфного варианта гена LEP rs7799039 в нашем исследовании не было ассоциировано с развитием артериальной гипертензии и МС (p> 0,05). Шансы развития

ожирения при наличии аллели G гена LEP были ниже в 2,394 раза (ОШ = 0,418; 95% ДИ: 0,187 – 0,931, p = 0,03), что свидетельствует о протективном влиянии данной аллели в отношении развития ожирения.

Анализ показателей липидного обмена в зависимости от генотипов выявил, что гомозиготный вариант GG гена LEPR ассоциирован с более низким уровнем ЛПВП (AG = 1,15 (1,0;1,39) ммоль/л; GG = 1,04 (0,89; 1,19) ммоль/л; p = 0,041) и гипертриглицеридемией (p = 0,036) (рисунок 3).

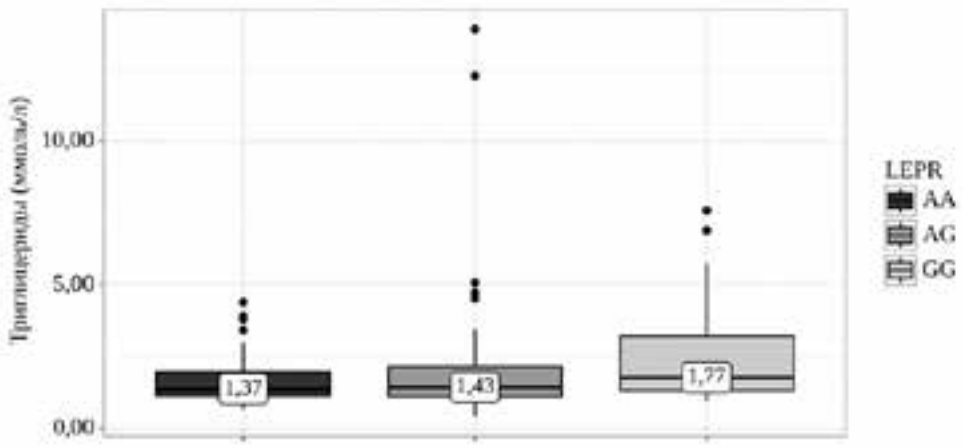


Рисунок 3. Уровни триглицеридов в зависимости от полиморфных вариантов гена LEPR

Анализ распределения генотипа LEPR в зависимости от наличия абдоминального ожирения у работников электросетевых объектов выявил статистически значимые различия. Гомозиготный вариант GG гена LEPR ассоциирован с развитием абдоминального ожирения (рисунок 4).

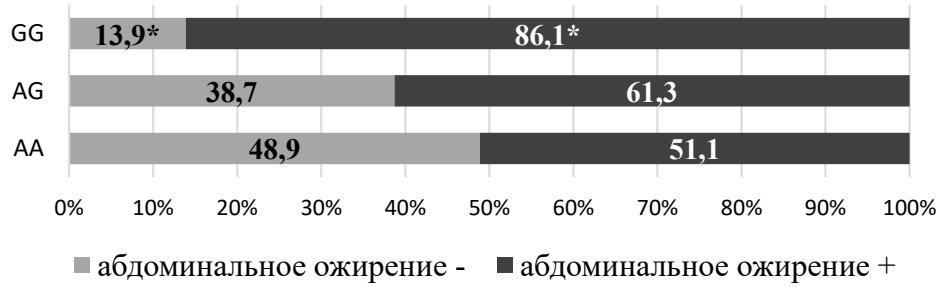


Рисунок 4. Частота встречаемости абдоминального ожирения в зависимости от вариантов генотипа LEPR

Примечание: * - p < 0,05

Наличие аллели G гена LEPR, также ассоциировано с развитием абдоминального ожирения. Шансы развития абдоминального ожирения в группе работников с аллелью G гена LEPR были выше в 2,181 раза, по сравнению с группой работников гомозиготных по аллели

A, различия шансов были статистически значимыми (95% ДИ: 1,058 – 4,495; p = 0,033). При анализе распределения ожирения, МС, уровня ИМТ и артериального давления в зависимости от аллелей гена LEPR статистически значимые различия не выявлены (p> 0,05).

Был выполнен анализ углеводного и липидного обменов в зависимости от генотипов гена ADIPOR2. Исходя из полученных данных при сравнении уровней глюкозы и ЛПНП в зависимости от полиморфных вариантов гена ADIPOR2, были установлены существенные различия (p = 0,023; p = 0,032, соответственно) (рисунок 5).

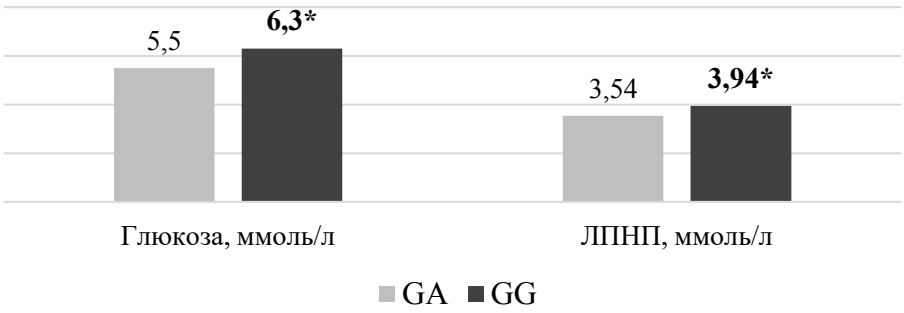


Рисунок 5. Уровень глюкозы и ЛПНП в зависимости от полиморфного варианта гена ADIPOR2

Примечание: * - p < 0,05

Обсуждение. Полиморфизм гена LEP rs7799039 экспрессируется в жировой, мышечной ткани, кардиомиоцитах, печени, желудке и плаценте [10]. В результате проведенного нами исследования было выявлено, что наличие аллели G снижает риск развития ожирения в 2,394 раза (ОШ = 0,418; 95% ДИ: 0,187 – 0,931, p = 0,03), что свидетельствует о протективном эффекте данной аллели в отношении состояний, ассоциированных с кардиометаболической патологией. Полученные данные согласуются с проведенными ранее исследованиями, указывающими на влияние мутации в гене LEP на артериальное давление, развитие избыточной массы тела и ожирения [11].

Лептин оказывает свое физиологическое действие на клетки-мишени через рецепторы лептина, которые относятся к семейству цитокиновых рецепторов. Рецептор лептина - единственный трансмембранный белок, который экспрессируется преимущественно в центральной нервной системе, а также распределяется в других тканях и клетках, таких как бета-клетки поджелудочной железы, гепатоциты, скелетные мышцы и клетки жировой ткани. Периферические эффекты этого гормона включают регуляцию секреции и действие не только лептина, но и инсулина. Ряд авторов связывает полиморфные варианты гена лептина и его рецепторов с нарушением чувствительности к инсулину, изменением концентрации триглицеридов, холестерина липопротеидов высокой плотности [12]. Известно большое число полиморфных вариантов гена рецептора лептина - LEPR. Одним из наиболее изученных

является полиморфизм rs1137101, для которого установлена ассоциация с избыточной массой тела и ожирением. Но получаемые данные относительно связи с метаболическими изменениями в организме противоречивы [13]. В нашем исследовании выявлена ассоциация гомозиготного варианта GG гена LEPR с более низким уровнем ЛПВП (AG = 1,15 (1,0;1,39) ммоль/л; GG = 1,04 (0,89; 1,19) ммоль/л; p = 0,041) и гипертриглицеридемией (AG = 1,37 ммоль/л; GG = 1,77 ммоль/л; p = 0,036). Кроме того, выявлена связь гомозиготного варианта GG и аллели G гена LEPR с развитием абдоминального ожирения.

Результаты исследования указывают на более высокие уровни глюкозы и ЛПНП у работников электросетевых объектов с гомозиготным вариантом GG гена ADIPOR2, что согласуется с литературными данными. В нескольких популяционных исследованиях сообщалось об ассоциации между полиморфизмом гена ADIPOR2 rs16928751 с развитием инсулинорезистентности, сахарным диабетом второго типа, измененными уровнями триглицеридов, увеличенным содержанием жиров в печени и развитием ишемической болезни сердца [14].

На сколько нам известно, ранее не проводилось исследований на предмет ассоциаций rs12150660 SHBG с развитием метаболических нарушений. Непосредственное участие ОНП в развитии гипоандрогении позволяет предположить возможную связь rs12150660 SHBG с метаболическим синдромом или отдельными его компонентами. В нашем исследовании была выявлена достоверно значимая ассоциация гомозиготного варианта TT rs12150660 с низким уровнем ЛПВП (p = 0,044) и развитием ожирения (p=0,023). Полученные результаты свидетельствуют о значимости использования данного ОНП в комплексной оценке кардиометаболического риска у работников электросетевых объектов.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о значимой роли факторов индивидуальной предрасположенности в развитии метаболических нарушений, ассоциированных с развитием ССЗ. Выявлено наличие ассоциаций ОНП гена глобулина, связывающего половые гормоны, адипокинов и их рецепторов с развитием нарушений углеводного, липидного обменов и состояний, ассоциированных с риском развития ССЗ. У работников электросетевых объектов, подвергающихся воздействию ЭП и МП ПЧ, на основании молекулярно-генетических исследований установлено, что аллель T полиморфного варианта rs12150660 гена SHBG ассоциирована с низким уровнем ЛПВП и развитием ожирения. Аллель G гена LEP проявляет протективное действие в отношении развития ожирения. Гомозиготный вариант GG гена LEPR ассоциирован с низким уровнем ЛПВП и развитием гипертриглицеридемии. Кроме того, выявлено, что аллель G и генотип GG гена LEPR являются факторами риска развития абдоминального ожирения. Однонуклеотидный полиморфизм rs16928751 гена ADIPOR2 ассоциирован с гипергликемией

и высоким уровнем ЛПНП.

В данном контексте генетическая предрасположенность может играть роль, сравнимую с ролью традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Благодаря молекулярной генетике возможно выявление и решение основных проблем сердечно-сосудистых заболеваний мультифакториальной природы - атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, ожирения, метаболического синдрома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hippisley-Cox J., Coupland C., Robson J., Brindle P. Derivation, validation, and evaluation of a new QRISK model to estimate lifetime risk of cardiovascular disease: cohort study using QResearch database //Bmj. – 2010. – Т. 341. – P. 93-94.

2. Орлова Н. В., Старокожева А. Я., Тимощенко А. В. Роль стресса в развитии сердечно-сосудистой патологии в экстремальных профессиях //Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 2. – №. 27. – С. 42-44. – ISSN 2078 5631.

3. Русин М. Н., Фатхутдинова Л. М. Изменения деятельности сердечно-сосудистой системы у работников энергообъектов г. Казани //Казанский медицинский журнал. – 2005. – Т. 86. – №. 4. – С. 281-284.

4. Никитин А. Г., Потапов В.А., Бровкин А.Н., Лаврикова Е.Ю., Ходырев Д.С.. Шамхалова М.Ш., Аверьянов А.В. Ассоциация полиморфных маркеров генов FTO, KCNJ11, SLC30A8 и CDKN2B с сахарным диабетом типа 2 //Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49. – №. 1. – С. 119-119.

5. Haring R., Baumeister S.E., Volzke H., Dorr M., Felix S.B., Kroemer H.K., Wallaschofski H. Prospective association of low total testosterone concentrations with an adverse lipid profile and increased incident dyslipidemia //European Journal of Preventive Cardiology. – 2011. – Т. 18. – №. 1. – P. 86-96.

6. Есауленко Е. Е. Особенности изменений гормонального статуса и оптимизация их диагностики у мужчин с метаболически ассоциированной жировой болезнью печени. – Краснодар. – 2022. – С. 13-36.

7. Приказ Минздрава России от 28.01.2021 N 29н (ред. от 01.02.2022) "Об утверждении Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров работников, предусмотренных частью четвертой статьи 213 Трудового кодекса Российской Федерации, перечня медицинских противопоказаний к осуществлению работ с вредными и (или) опасными производственными факторами, а также работам, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры" (Зарегистрировано в Минюсте России 29.01.2021 N 62277) // КонсультантПлюс [электронный ресурс] – 1997-2023. – URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_375353/ (дата обращения: 23.01.2024)

8. Хотулева, А. Г. Биохимические и молекулярно-генетические маркеры нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома: специальность 14.02.04. «Медицина труда»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Хотулаева Анастасия Григорьевна; Научно-исследовательский институт медицины труда им. акад. Н.Ф. Измерова – Москва, 2017. – 194 с. – Библиогр.: С. 162–194

9. Einhorn, D. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome / D. Einhorn, G.M. Reaven, R.H. Cobin, E. Ford, O.P. Ganda, Y. Handelsman, R. Hellman, P.S. Jellinger, D. Kendall, R.M. Krauss, N.D. Neufeld, S.M. Petak, H.W. Rodbard, J.A. Seibel, D.A. Smith, P.W. Wilson // Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists. – 2003. – Vol. 9 (3). – P. 237–252.

10. Сметнев С. А., Мешков А. Н. Роль пептидных гормонов (адипонектина, лептина, инсулина) в патогенезе атеросклероза //Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2015. – Т. 11. – №. 5. – С. 522-528.

11. Bevan S., Meidthner K., Lorenz M., Sitzer M., Grant P. J., Markus H.S. Adiponectin level as a consequence of genetic variation, but not leptin level or leptin: adiponectin ratio, is a risk factor for carotid intima-media thickness //Stroke. – 2011. – Т. 42. – №. 6. – P. 1510-1514.

12. Van der Vleuten G. M. Kluijtmans L. A., Hijmans,A., Blom H. J., Stalenhoef A. F. H., De Graaf J. The Gln223Arg polymorphism in the leptin receptor is associated with familial combined hyperlipidemia //International journal of obesity. – 2006. – Т. 30. – №. 6. – P. 892-898.

13. Иевлева К. Д. Баирова Т. А., Рычкова Л. В., Шенеман Е. А., Храмова Е. Е., Колесникова Л. И. Метаболизм и ожирение: вклад гена рецептора лептина //Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2. – №. 5-1 (117). – С. 56-62.

14. Siitonen N., Pulkkinen L., Lindströ J., Kolehmainen M., Schwab U., Eriksson J. G., Uusitupa M. Association of ADIPOR2 gene variants with cardiovascular disease and type 2 diabetes risk in individuals with impaired glucose tolerance: the Finnish Diabetes Prevention Study //Cardiovascular diabetology. – 2011. – Т. 10. – №. 1. – P. 1-11.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Кислякова Агата Александровна (Kisljakova Agata Aleksandrovna);

адрес: Россия, 105275, г. Москва, пр-т Буденного, 31 [address: 31, Budennogo Ave., Moscow, Russia, 105275]; ORCID 0000-0002-7024-6634; eLibrary SPIN: 8376-0164.

телефон: +7 (977) 882-00-38;

e-mail: agat.iwanowa2017@yandex.ru.

Соавторы:

Хотулева Анастасия Григорьевна, к.м.н. [Anastasia G. Khotuleva]; ORCID: 0000-0003-0359-1785; eLibrary SPIN: 8413-5425

ЛИЧНОСТНАЯ ТРЕВОЖНОСТЬ И КАЧЕСТВО СНА В ОТКРЫТОЙ ГОРОДСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ: РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, АССОЦИАЦИИ, ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Е.В. Лебедев

Тюменский кардиологический научный центр – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Введение

Понятие сна в научной литературе описано, с одной стороны, как естественное состояние организма, определяющее нормальное функционирование всех его систем и органов, с другой стороны – как один из важных факторов, влияющих на уровень здоровья населения. Основная функция сна – это восстановительный процесс, который в большой степени позволяет организму адаптироваться к меняющимся условиям внутренней и внешней среды. При его нарушении возможности адаптации снижаются, что в итоге ведет к развитию соматической патологии, и прежде всего, сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Анализ крупных эпидемиологических исследований показал, что нарушения сна ассоциированы с высоким риском развития ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, в том числе с летальным исходом (короткий сон). В то же время, короткий сон не сопровождался повышением общего риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), тогда как увеличение продолжительности сна ассоциировалось с повышенным риском развития и смерти от сердечной недостаточности, более высоким риском инсульта и общим риском развития ССЗ [1–4]. При оценке популяционных закономерностей ассоциативных взаимосвязей ССЗ и нарушений сна становится понятным, что нарушения сна часто связаны с таким негативным психоэмоциональным состоянием, как личностная тревожность (ЛТ), а также с другими психосоциальными факторами [5–8]. Ассоциации нарушений сна с тревожными расстройствами отмечаются, с одной стороны, когда нарушения сна могут провоцировать развитие тревожных расстройств, а с другой – когда начало тревожного расстройства предшествует началу нарушений сна [9, 10]. В настоящем исследовании высокие уровни личностной тревожности (ЛТ) оказались доминирующими психосоциальными факторами (ПСФ), в связи с чем анализ их ассоциаций с нарушением сна среди лиц разного пола представляется необходимым использовать для формирования комплексных превентивных мероприятий на региональном уровне [11, 12].

Целью исследования явилось определение ассоциаций нарушения сна с распространенностью высоких уровней личностной тревожности в открытой городской популяции.

Материал и методы. Одномоментные эпидемиологические исследования были проведены на репрезентативных выборках среди лиц мужского и женского пола открытой городской популяции Тюмени. Выборки формировались на основе избирательных списков граждан с использованием таблицы случайных чисел. Применялась процедура случайного механического отбора. Репрезентативные выборки 25-64 лет включали включали по 1000 мужчин и женщин, соответственно, по 250 лиц в каждом десятилетии жизни, респонс среди мужчин составил 85,0%, среди женщин – 70,3%. Исследования были выполнены в соответствии с принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследований был одобрен Этическими комитетами двух участвующих клинических центров. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Уровни личностной тревожности (ЛТ) оценивали с помощью теста Спилбергера (подшкала тревожности как черты личности) [13]. Статистический анализ проводился с использованием программного пакета IBM СТАТИСТИКА 21.0. Для сравнения показателей между скринингами использовались соответствующие возрастные группы. Для проверки статистической значимости различий между группами применялся критерий «хи-квадрат» (χ^2) Пирсона. При парных сравнениях средних величин в четырех и более независимых группах, для исключения проблемы множественных сравнений, применялась поправка Бонферрони. Стандартизация по возрасту изучаемых параметров проводилась с применением прямого метода стандартизации. Во всех процедурах статистического анализа рассчитывался достигнутый уровень значимости (p), а критический уровень значимости в исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В таблице представлены стандартизованные по возрасту показатели распространенности различных характеристик качества сна у мужчин и женщин открытой городской популяции – плохой сон существенно чаще выявлялся у женщин, соответственно у женщин существенно реже выявлялся и хороший сон. В возрастном диапазоне у мужчин открытой городской популяции определялась тенденция к снижению хорошего сна от третьего к шестому десятилетию жизни, однако она была статистически незначимой, при этом показатель хорошего сна в шестом десятилетии жизни оказался существенно ниже общепопуляционного показателя. Наиболее низкий показатель удовлетворительного сна был выявлен у мужчин младшей возрастной категории 25-34 лет с существенным его ростом к пятому и шестому десятилетиям жизни. В возрастном диапазоне у женщин по параметрам сна существенные различия определялись только в отношении положительного ответа по хорошему сну с максимальным значением показателя в четвертом десятилетии жизни относительно показателя в пятом десятилетии жизни (таблица).

На рисунке 1 представлены стандартизованные по возрасту показатели распространенности ЛТ у мужчин и женщин открытой популяции Тюмени. С приоритетом для женщин были определены статистически значимые различия по высокому уровню ЛТ (рис. 1).

Если у мужчин открытой городской популяции по двум параметрам качества сна (очень хороший и хороший сон) отмечались статистически значимые различия с негативным снижением показателей при высоком уровне тревоги по сравнению с ее низким уровнем, то у женщин существенные различия при высоком и низком уровнях ЛТ имели место лишь по параметру очень хорошего сна. В то же время, удовлетворительный сон преобладал у мужчин с высоким уровнем тревоги (рис. 2).

Полученные на основании кросс-секционных исследований на открытой популяции результаты анализа нарушения сна и ЛТ показали преимущественную их распространенность среди женщин, причем у мужчин уязвимыми возрастными периодами в отношении качества сна явились третье и шестое десятилетия жизни, у женщин – пятое десятилетие жизни. Что касается ассоциаций нарушения сна с высоким уровнем ЛТ, этот феномен является закономерным и сопоставимым с многочисленными результатами экспериментальных, клинических и эпидемиологических исследований [1–6]. Показано, что тревога проявляется повышенной корковой активацией, способствует состоянию дисфункционального возбуждения, что влечет за собой трудность засыпания и поддержания сна [7–10]. Полученные в настоящем исследовании результаты являются сопоставимыми с данными, полученными на новосибирской популяции, где более, чем у 60% лиц обоего пола с нарушением сна определялся высокий уровень ЛТ [6].

Таким образом, анализ определения качества сна у мужчин и женщин в возрастном диапазоне, а также ассоциаций нарушения сна с отрицательными аффективными состояниями представляется необходимым использовать при формировании профилактической программы по снижению высокого сердечно-сосудистого риска в открытой городской популяции, ориентированной, прежде всего, на регуляцию психологических параметров.

Выводы

1. В открытой городской популяции нарушение сна превалировало у женщин, у мужчин уязвимыми возрастными периодами в отношении качества сна явились третье и шестое десятилетия жизни, у женщин – пятое десятилетие жизни.
2. Выявлена негативная ситуация с ухудшением качества сна как у мужчин, так и у женщин при высоком уровне личностной тревожности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cappuccio FP, D`Elia L, Strazzullo P., et al. Sleep duration and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. // Sleep. – 2010. – Vol. 5, № 33. – P. 585–592.

2. Okereke O., Manson J.E. Psychosocial Factors and Cardiovascular Disease Risk: An Opportunity in Women's Health. // Circulation Research. – 2017 – Vol. 12, № 120. – P. 1855–1856.

3. Dzierzewski JM, Dautovich ND. Who Cares about Sleep in Older Adults? // Clin Gerontol. – 2018. – Vol. 2, № 41. – P. 109–112.

4. Roberts RE, Duong HT. Is there an association between short sleep duration and adolescent anxiety disorders? // Sleep Med. – 2017. - № 30, - P. 82–87. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2016.02.007

5. Погосова Н.В., Бойцов С.А., Оганов Р.Г. и др. Клинико-эпидемиологическая программа изучения психосоциальных факторов риска в кардиологической практике у больных артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца (КОМЕТА): первые результаты российского многоцентрового исследования. // Кардиология. – 2019. - № 8. - С. 54–63.

6. Гафаров В.В., Громова Е.А., Панов Д.О. и др. Психосоциальные факторы и нарушения сна среди населения 25–64 лет в России/Сибири (международная программа ВОЗ «MONICA-психосоциальная»). // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2023. - № 15 (4). - С. 17–23.

7. Акимова Е.В., Каюмова М.М., Бессонова М.И. Психосоциальные факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний в женских популяциях с позиции исследований тревоги. // Профилактическая медицина. – 2022. - № 25 (7). - С. 97–102.

8. Гоманова Л.И., Баланова Ю.А., Евстифеева С.Е. и др. Психоэмоциональный стресс как фактор риска развития хронических неинфекционных заболеваний. // Профилактическая медицина. – 2023. - № 26 (8). – С. 114-120.

9. Корешкина М.И. Тревожные расстройства как фактор риска развития нарушений сна и головных болей. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2021. - № 121 (2). – С. 131–135.

10. Якупов Э.З., Трошина Ю.В. Тревога, депрессия и инсомния – единство или автономность функциональных расстройств. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. - № 116 (5). – С. 119–124.

11. Curry SJ, Krist AH, Owens DK., et al. US Preventive Services Task Force. Risk Assessment for Cardiovascular Disease with Nontraditional Risk Factors: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. J. // Am Med Assoc. – 2018. – Vol. 3, № 320. – P. 272–280. https://doi.org/10.1001/jama.2018.8359

12. Масленникова Г.Я., Оганов Р.Г. Выбор оптимальных подходов к профилактике неинфекционных заболеваний в рамках международного сотрудничества. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2018. - № 17 (1). – С. 4–9.

13. Spielberger CD. Anxiety as an emotional state. In: Anxiety: current trends in theory and research. Ed. by CD Spielberger. Vol. 1. NY: Academic Press, 1972. – P. 24–49.

Таблица. Качество сна в открытой городской популяции 25–64 лет в возрастном диапазоне

Вопрос / отношение	Возрастные группы – мужчины / женщины 25-64 лет (n=850 / 703)										
	25-34 (n=177/122)		35-44 (n=228/207)		45-54 (n=231/159)		55-64 (n=214/215)		25-64 (n=850703)		СП
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Как вы спите?											
1. Очень хорошо	20/7	11,3/5,7	19/12	8,3/5,8	12/11	5,2/6,9	13/7	6,1/3,3	64/37	7,5/5,3	7,6/5,7
2. Хорошо	92/32	52,0/26,2	101/84	44,3/40,6	79/39	34,2/**24,5	59/69	27,6**/32,1	331/224	38,9/31,9	39,3/32,9
3. Удовлетворительно	59/58	33,3/47,6	90/89	39,5/43,0	110/79	*47,6/49,7	105/99	*49,0/46,0	364/325	42,9/46,2	43,9/47,7
4. Плохо	6/25	3,4/20,5	17/22	7,5/10,6	28/30	12,1/18,9	34/39	15,9/18,1	85/116	10,0/16,5	10,2/16,7
5. Очень плохо	0/0	0/0	1/0	0,4/0	2/0	0,9/0	3/1	1,4/0,5	6/1	0,7/0,1	0,8/0,1

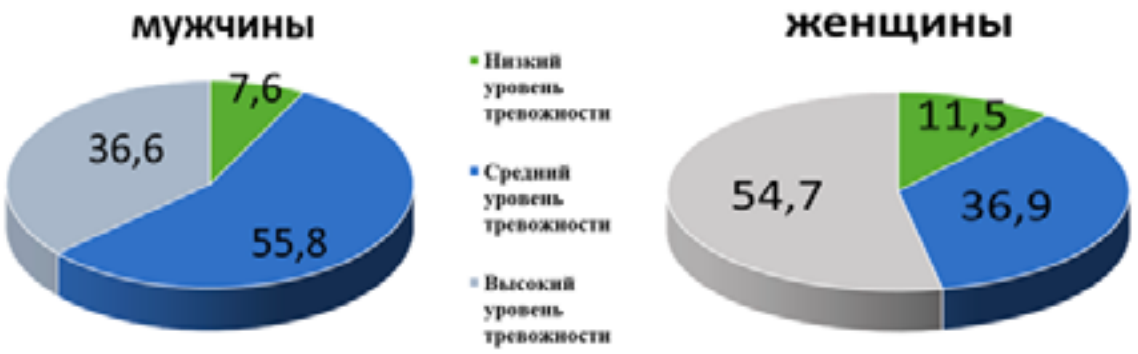


Рисунок 1. Уровни личностной тревожности у мужчин и женщин 25-64 лет г. Тюмени, %

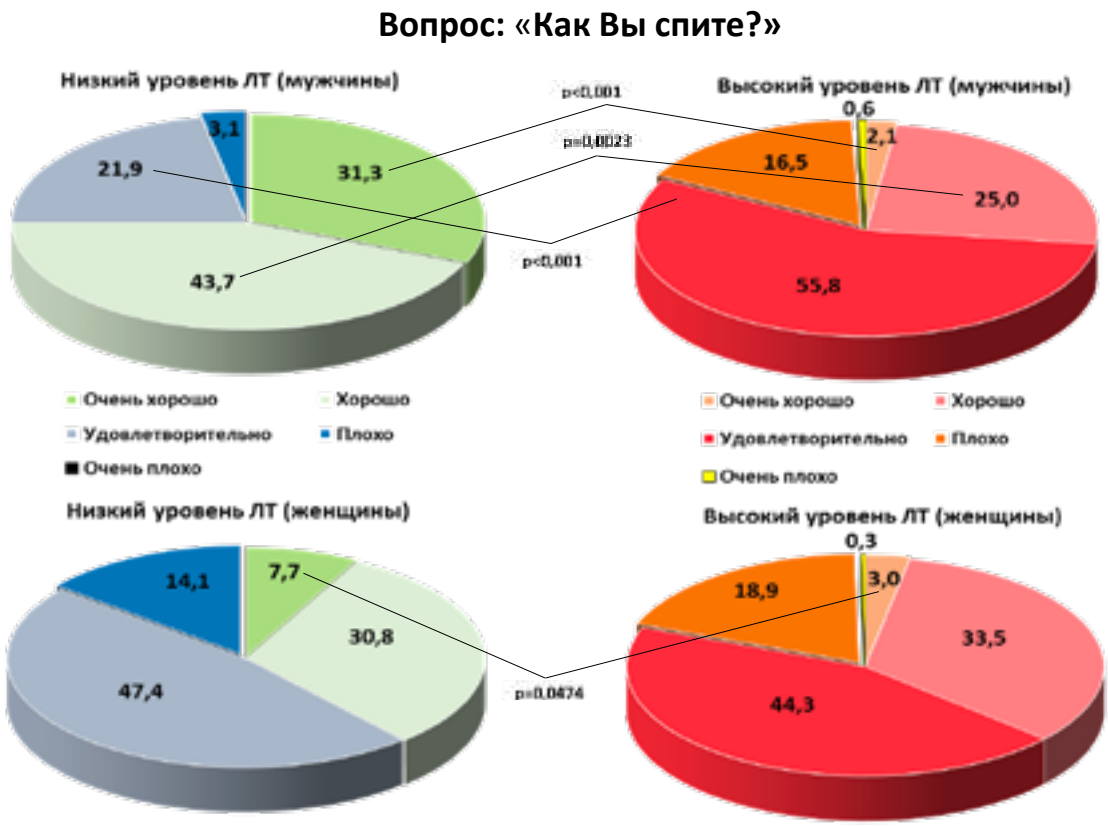


Рисунок 2. Нарушение сна и личностная тревожность у мужчин и женщин тюменской популяции 25–64 лет, %

ПРОФИЛАКТИКА ХНИЗ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА ПУТЁМ ФОРМИРОВАНИЯ МОДЕЛИ ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ ПРИ КЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННЫХ ТРЕВОЖНОСТИ И ДЕПРЕССИИ

А.В. Мирошникова, В.И. Склярова, О.Е. Рябыш, С.О. Иващенко

Научные руководители: доцент, кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой здорового образа жизни и диетологии Дядикова И.Г., ассистент кафедры здорового образа жизни и диетологии Дударева В.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Актуальность и новизна исследования. Стресс является неотъемлемой частью нашей жизни и приобретает на данный момент, по исследованиям всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), признаки «общемировой эпидемии». Традиционное понимание стресса ассоциируется с общей защитной реакцией организма на различные негативные стимулы и воздействия. Будут наблюдаться активация коры надпочечников, катехоламинемия, ишемия тканей с их повреждением; рост активности углеводного, белкового, липидного обмена тканей с последующим истощением и дезадаптацией. Данные изменения приводят к нарушениям всех видов обмена веществ, включая дисбаланс микро- и макронутриентов, что не может не отражаться на состоянии пищевого статуса организма. С одной стороны, стресс направлен на адаптацию к окружающей среде, с другой - является предиктором и патогенетической основной многих заболеваний. Здоровье человека и адекватная реакция на стрессовый фактор зависит от многих факторов, в частности, от питания и нутритивного статуса. [1, 2]

Образовательный процесс в высшем учебном заведении угрожает устоявшейся системе питания с формированием нездоровых пищевых привычек и нарушений пищевого поведения. Особое внимание мы хотим уделить будущим врачам, особенно имеющим клинически выраженную тревогу и депрессию, что оставляет неизгладимый отпечаток на их приёме пищи. Наши собственные исследования фактического питания, проводимые на протяжении более чем 10 лет, свидетельствуют, что рационы студентов-медиков разбалансированы по составу микро- и макронутриентов, отличаются избыточным содержанием общего жира, добавленного сахара, холестерина, а также дефицитны по содержанию витаминов, что является фактором риска алиментарно-зависимых заболеваний. [3, 4, 5]

Цель. Установить зависимость между психическим состоянием студентов-медиков и их фактическим питанием.

Задачи. Выявить особенности фактического питания у студентов-медиков и врачей разных групп психического состояния. Показать роль коррекции рациона в профилактике алиментарно-зависимых хронических заболеваний у лиц молодого возраста.

Материалы и методы. В исследовании приняло участие 53 студента (средний возраст 20,3±2,1 лет) ФГБОУ ВО РостГМУ, 22 врача (средний возраст 40,9± 9,1 лет) МБУЗ «Городская поликлиника №12». Для первичного выявления депрессии и тревоги использовалась Госпитальная шкала тревоги и депрессии HADS (The hospital Anxiety and Depression Scale Zigmond A.S., Snaith R.P.). Для анализа фактического питания была использована «Программа анализа состояния питания человека, версия 1.2.4., зарегистрированная Российским агентством по патентам и товарным знакам 09.02.04 № 2004610397 ГУНИИ Питания РАМН». Полученные данные сравнивались с методическими рекомендациями «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ» (2021) для коэффициента физической активности (КФА) 1,4 (очень низкая физическая активность). По результатам исследования разрабатываются методические рекомендации.

Результаты. В группу врачей попали только женщины, но так как в группе студентов не было выявлено гендерных отличий, подсчёт результатов делался без их учёта.

В результате первого этапа, оценки психического состояния с помощью госпитальной шкалы тревоги и депрессии HADS, мы получили уникальные данные - группы психического состояния студентов-медиков и врачей совпали по процентам: 55-56% респондентов имели клинически выраженную депрессию или тревогу; 17-18% - субклинически протекающую тревогу или депрессию, и только 27% составили норму. (Приложение 1)

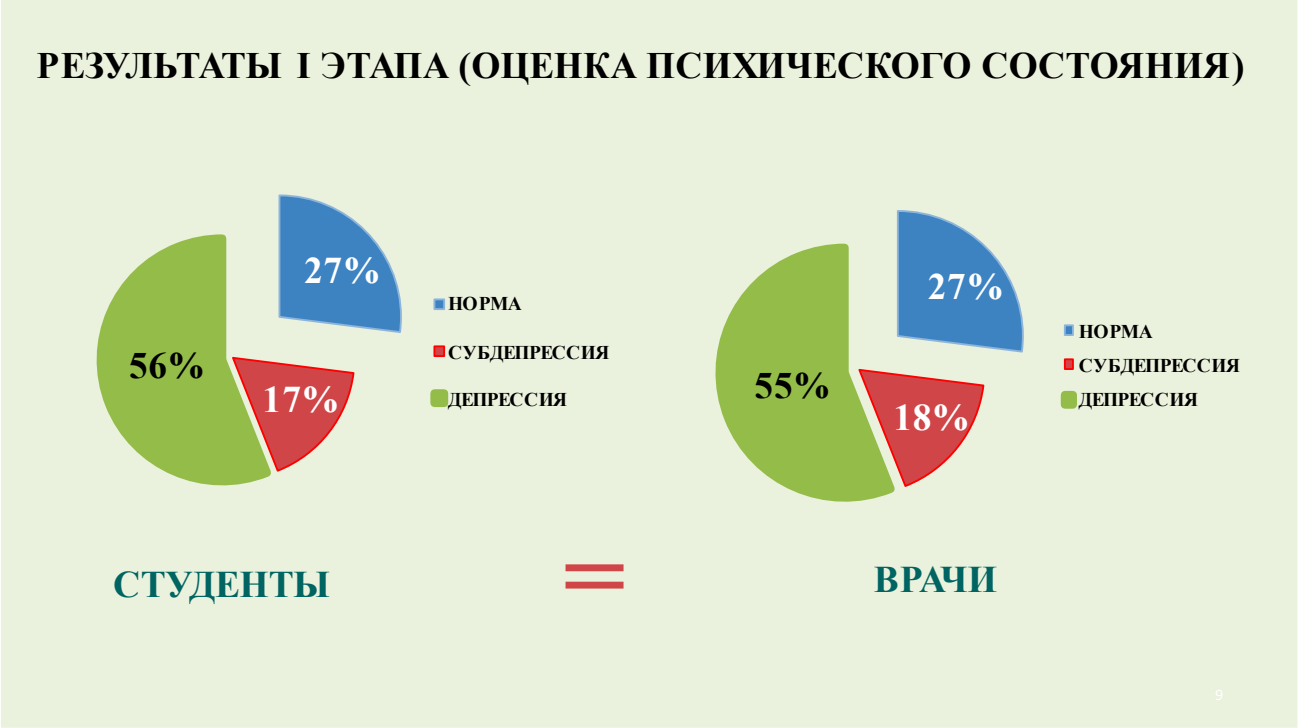
На втором этапе, при анализе фактического питания, наибольший интерес составило сравнение между собой группы «норма» и «депрессия». У респондентов с депрессией, как среди студентов-медиков, так и среди врачей, обнаружены избыточные значения таких показателей как общий жир, холестерин, Na, K. Именно эти нутриенты являются предиктором алиментарно-зависимых заболеваний, выявленных у врачей (у 50% - сахарный диабет 1-ого типа, у 70% - избыток массы тела или ожирение, у 20% - гипертоническая болезнь, у 60% - остеопороз). (Приложение 2)

Результаты третьего этапа – биоимпедансометрии, так же показали неблагоприятные результаты в группе «депрессия» как среди студентов, так и среди врачей. (Приложение 3)

Выводы. Предотвращение пагубных пищевых привычек у лиц молодого возраста снизит риск формирования стресс-индуцированных алиментарно-зависимых заболеваний, выявленных у их старших коллег.

Материально-техническая база. ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Кафедра здорового образа жизни и диетологии, г. Ростов-на-Дону; МБУЗ «Городская поликлиника №10» г. Ростов-на-Дону; МБУЗ «Городская поликлиника №12» г. Ростов-на-Дону; Областной Центр здоровья.

Приложение 1



Приложение 2

РЕЗУЛЬТАТЫ II ЭТАПА: АНАЛИЗ ФП

ПОКАЗАТЕЛИ ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ	НОРМА	ДЕПРЕССИЯ
БЕЛОК	137,5	122,86
ОБЩИЕ УГЛЕВОДЫ	91,015	423,51
ОБЩИЙ ЖИР	69,96	144,86
ХОЛЕСТЕРИН	270,243	515,99
Na	1,84	5,09
K	1734	3717
Fe	19,09	18,59

СТУДЕНТЫ

ПОКАЗАТЕЛИ ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ	НОРМА	ДЕПРЕССИЯ
БЕЛОК	137,5	91
ОБЩИЕ УГЛЕВОДЫ	388,3	237,3
ОБЩИЙ ЖИР	167,8	120,1
ХОЛЕСТЕРИН	460	351,3
Na	6,9	4,1
K	5001	3533
Fe	31,2	20,2

ВРАЧИ

Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ М.Р. 2.3.1. 0253 -21 (2021)

Приложение 3

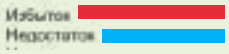
РЕЗУЛЬТАТЫ III ЭТАПА: БИОИМПЕДАНСОМЕТРИЯ

	НОРМА	ДЕПРЕССИЯ
ИМТ	22,4	27,6
ЖМ	8,42	19,5
БЖМ	58,7	69,6
АКМ	35,1	42,6
ОЖО	37,04	43,45

СТУДЕНТЫ

	НОРМА	ДЕПРЕССИЯ
ИМТ	25,6	27,4
ЖМ	11,5	23,5
БЖМ	50	71,8
АКМ	37,3	46,1
ОЖО	41,04	47,28

ВРАЧИ



Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека - Москва: Наука Москва, 2009

ЛИТЕРАТУРА

1. Есин Р.Г., Есин О.Р., Хакимова А.Р. Стресс-индуцированные расстройства. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;(5):131–137. https://doi.org/10.17116/jnevro2020120051131. Esin R.G., Esin O.R., Khakimova A.R. Stress-induced disorders. Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii imeni S.S. Korsakova.2020
2. Эбзеева Е. Ю., Полякова О. А. СТРЕСС И СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ РАССТРОЙСТВА // МС. 2022. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/stress-i- stress-indutsirovannye-rasstroystva (дата обращения: 01.10.2022).
3. Дударева В.А. Стресс и питание: синдром хронической усталости и другие ассоциированные со стрессом состояния // Вестник терапевта. 2018. No 9 (33).
4. Жарова Ю. С., Дударева В. А., Дядикова И. Г., Колбина А. П., Красноперова А. И. Рацион питания студента в условиях самоизоляции. Современные аспекты формирования ЗОЖ у молодого поколения./ Ю.С. Жарова. — Ростов-на-Дону: Сборник материалов II всероссийской научно-практической конференциистудентов и молодых ученых. — 2020. — С. 57-59. — Текст: непосредственный.
5. Жарова Ю. С., Ходаченко И. Ю., Дударева В. А., Дядикова И. Г. Карта- алгоритм питания студентов: использование фактических данных для создания доступных практических рекомендаций. Современные подходы к продвижениюпринципов здорового образа жизни./Ю. С. Жарова.— Ростов-на-Дону: сборник материалов региональной научно-практической конференции студентов имолодых ученых.—2019. —С. 131-136.— Текст: непосредственный

ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ: ВКЛАД В ФОРМИРОВАНИЕ ИГРОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ

С.С. Пюрвеев *, А.А. Лебедев, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов

[1]ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины», 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

*E-mail: dr.purveev@gmail.com

Актуальность. Взаимное взаимодействие и помощь имеют ключевое значение для социально живущих животных и людей. Социальная изоляция являются ключевыми факторами дистресса, которые были связаны с широким спектром психических расстройств, включая расстройства настроения, психозы и наркотическую зависимость [1]. Особенно уязвимыми группами к пагубным последствиям социальной изоляции и дискриминации являются дети, учитывая, что травматизация, а также социальное и физическое пренебрежение в раннем возрасте влияют на развитие нервной системы и представляют собой ключевые факторы риска развития психических заболеваний на протяжении всей жизни [2]. Широкое распространение карантинных правил во время пандемии COVID еще больше повысило интерес к поведенческим и нейробиологическим последствиям социальной изоляции. Длительная социальная изоляция создает благоприятную основу для формирования зависимостей, включая игровую. [8].

Цель исследования. Изучение проявления импульсивного и компульсивного компонентов игровой зависимости, а также изменения дофаминовой системы у лабораторных животных, подвергшихся социальной изоляции.

Материалы и методы. работа была проведена на 30 белых самцах крыс линии Вистар. В ходе работы по оценки импульсивного и компульсивного компонентов игровой зависимости был апробированн ряд поведенческих тестов.

Модель социальной изоляции. На 20-й день после рождения (сразу после молочного вскармливания) самцов рассаживали в индивидуальные клетки. В возрасте 90–100 дней животных брали в опыт. Индивидуальные клетки (40 × 25 × 25 см) были сделаны таким образом, чтобы свести контакт крысы с человеком до минимума при уборке клетки. После каждого опыта животных возвращали в их жилые клетки.

Тест «закапывание шариков» предложен как модель обсессивно-компульсивного расстройства (ОКР), связанного с навязчивыми идеями и действиями. В клетку размером 20 × 25 × 17 см насыпали опилки слоем 5 см, сверху равноудаленно раскладывали 20

стеклянных шариков диаметром 1 см. Крысу помещали в клетку на 30 минут. По истечении этого времени подсчитывали число шариков, закрытых опилками более чем на 2/3. В данном эксперименте каждое животное тестировали 3 раза.

Тест «вероятности и величины подкрепления». Установка состояла из двух частей – стартовой камеры размером 35 × 50 × 35 см и трех рукавов – 50 × 15 × 35 см. Животное каждый день помещали на стартовую площадку и тестировали побежки в течение 10 мин. В начале тренировочного периода при каждом выборе первого рукава крыса получала 1 семечку. При каждом выборе второго рукава – 2 семечки, и при каждом выборе 3 рукава – 3 семечки. Этот период обучения длился 5 дней. На следующем этапе обучения устанавливали подачу подкрепления, принятую в основном эксперименте, изменялся при этом режим подкрепления. В кормушке 1 подавали 1 семечку в режиме FR1-1 (т.е. каждая побежка в рукаве 1 лабиринта подкреплялась пищей), в кормушке 2 – 2 семечки в режиме FR2-2 (т.е. каждая вторая побежка в рукаве 2 подкреплялась пищей), в кормушке 3 – 3 семечки в режиме FR3-3 (т.е. каждая третья побежка в рукаве 3 подкреплялась пищей) [3].

Метод ПЦР. На следующий день после окончания экспериментов животных умерщвляли путем декапитации, извлекали на холод структуры мозга (гипоталамус, миндалину, префронтальную кору), немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при температуре –80 °С до проведения ПЦР-анализа. Выделение тотальной РНК проводили из 20 мг пробы мозга с использованием реагента TRIzol (Ambion, США) в полном соответствии с инструкцией производителя. Синтез кДНК проводили методом обратной транскрипции в 25 мкл реакционной смеси с использованием РНК-зависимой ДНК-полимеразы вируса лейкемии мышей Молони (M-MuLV обратной транскриптазы, Promega, США). ПЦР с детекцией в режиме реального времени (Mx3005P, Stratagene, США) проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей SYBR Green (Синтол, Россия), смесь специфических прямых и обратных праймеров, подобранных и синтезированных в компании Beagle (Россия).

Результаты исследования. Для исследования влияния стресса хронической социальной изоляции после периода молочного вскармливания на импульсивный компонент игровой зависимости в тесте величины и вероятности подкрепления были изучены две группы животных: интактные крысы (контроль, $n = 15$) и крысы, выращенные в условиях социальной изоляции (экспериментальная группа, $n = 15$). В группе социальной изоляции увеличивалось число заходов в 3-й луч установки ($p < 0{,}001$). Число заходов во 2-й луч (вознаграждение с более высокой вероятностью, но с меньшим пищевым подкреплением) при этом снижалось ($p < 0{,}05$) по сравнению с контрольной группой животных (*рис. 1*).

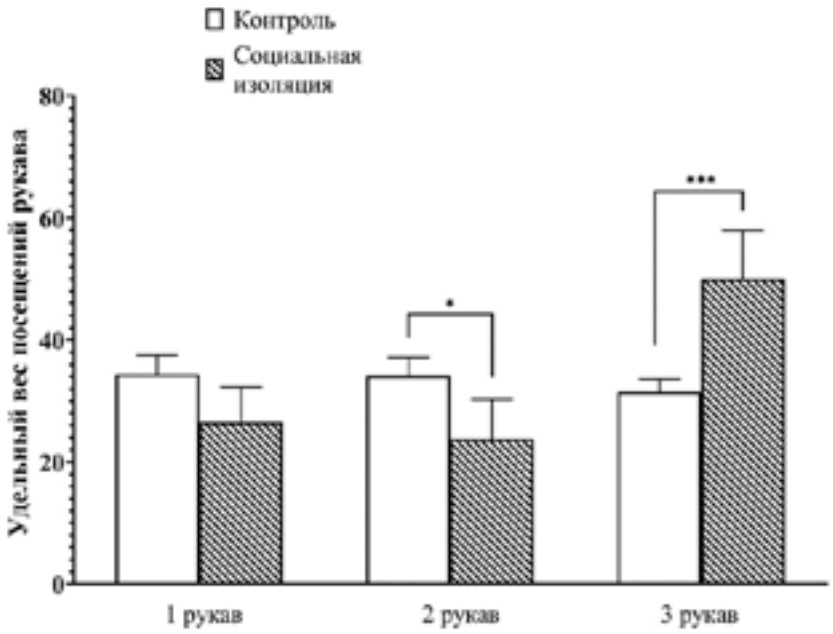


Рисунок 1. Влияние социальной изоляции на поведение крыс в трехлучевом лабиринте

Примечание: Контроль – группа животных, выращенных в сообществе; Социальная изоляция – группа крыс, выращенных в условиях социальной изоляции от сообщества.

* — $p \leq 0,05$; *** — $p \leq 0,001$ относительно контрольной группы животных.

В группе животных после стресса социальной изоляции после периода молочного вскармливания число закопанных шариков увеличилось в 2,5 раза (*рис. 2*). Таким образом, у животных, выращенных в условиях социальной изоляции, наблюдалось повышение компульсивного компонента игровой зависимости.

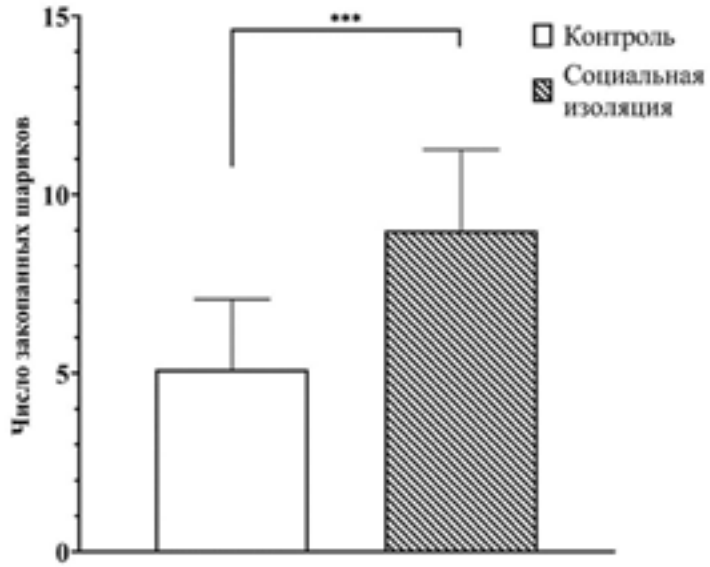


Рисунок 2. Влияния социальной изоляции на компульсивный компонент игровой зависимости в тесте «закапывание шариков»

Примечание: Контроль – группа животных, выращенных в сообществе; Социальная изоляция – группа крыс, выращенных в условиях социальной изоляции от сообщества.
*** — $p \leq 0{,}001$ относительно контрольной группы животных.

Уровень экспрессии гена GHSR1A в структурах головного мозга у животных, выращенных в условиях социальной изоляции. У группы животных с социальной изоляцией наблюдалось увеличение ($p < 0{,}05$) экспрессии гена *Ghsr1a* в гипоталамусе относительно контрольной группы животных. В миндалине и префронтальной коре статистически достоверных изменений уровня экспрессии гена *Ghsr1a* у группы животных с социальной изоляцией отмечено не было (*рис. 3*).

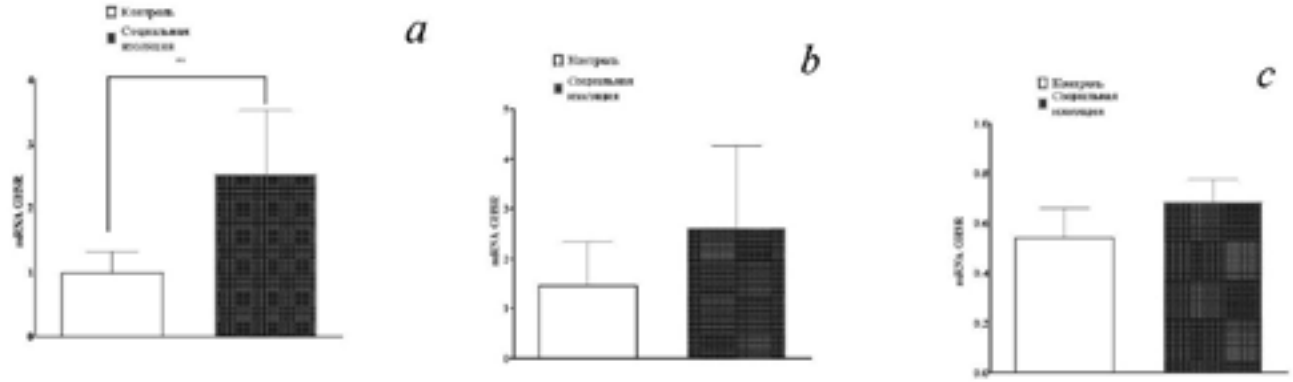


Рисунок 3. Влияние социальной изоляции на уровень мРНК рецепторов GHSR1A грелина в структурах мозга крыс.
Примечание: Контроль – группа животных, выращенных в сообществе; Социальная изоляция – группа крыс, выращенных в условиях социальной изоляции от сообщества.
A - гипоталамус; B - миндалина; C - префронтальная кора.
** — $p \leq 0{,}01$ относительно контрольной группы животных.

Выводы

1. Выращивание в условиях социальной изоляции вызывает проявления элементов игровой зависимости у половозрелых крыс. Это выражается в повышении импульсивности поведения в тесте IOWA вероятности и величины подкрепления, а также повышения уровня компульсивности в тесте закапывания шариков.
2. Социальная изоляция вызывает повышение мРНК грелиновых рецепторов в гипоталамусе мозга крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Исследование участия грелина в механизмах игровой зависимости у крыс после воздействия психогенных стрессоров в раннем онтогенезе / А. А. Лебедев, С. С. Пюрвеев, Э. А. Сексте [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 8. – С. 1080-1093. – DOI 10.31857/S086981392308006X.

2. Модели материнского пренебрежения и социальной изоляции в онтогенезе проявляют у животных элементы игровой зависимости, повышая экспрессию GHSR1A в структурах мозга / А. А. Лебедев, С. С. Пюрвеев, Э. А. Сексте [и др.] // Вопросы наркологии. – 2022. – № 11-12(213). – С. 44-66.

3. Повышение экспрессии мРНК рецептора грелина в структурах головного мозга детенышей крыс на модели отделения от матери и социальной изоляции / С. С. Пюрвеев, А. А. Лебедев, Э. А. Сексте [и др.] // Педиатр. – 2023. – Т. 14, № 2. – С. 49-58. – DOI 10.17816/PED14249-58.

АКТУАЛЬНОСТЬ НОВЫХ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К КОНТРОЛЮ СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА В ЛАКОКРАСОЧНЫХ МАТЕРИАЛАХ

А.С. Родионов

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Россия, г. Мытищи, ул. Семашко, д. 2

Аннотация. В работе обсуждаются вопросы актуальности нормирования свинца в лакокрасочных материалах и необходимости совершенствования методической базы в отношении его количественного определения. Проведены исследования пигментных красок разных цветов двух отечественных производителей, ориентированных на различные ценовые сегменты целевой аудитории. Для количественного определения свинца в образцах краски использован метод атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией.

На основании полученных данных сделаны выводы о текущем состоянии рынка лакокрасочных материалов и необходимости более строгого контроля лакокрасочных производств.

Ключевые слова: *свинец, краски, лакокрасочные материалы, атомно-абсорбционная спектрометрия, микроволновая минерализация*

Введение. Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами, связываемое с использованием различных лакокрасочных материалов, способствует выводу указанной проблемы на глобальный уровень [1]. Политика нормирования содержания свинца в красках бытового назначения началась около 40 лет назад, однако в настоящее время более чем в 100 странах его регламентированное содержание в данном виде продукции юридически не закреплено [2].

Причины широкого использования свинца в коммерческих лакокрасочных материалах обусловлены его способностью увеличивать долговечность покрытия, обеспечивать широкий спектр получаемых палитр цветов, устойчивость к коррозии и погодным условиям.

Экспозиции свинца из красок подвержены взрослые, связанные с отделочными и строительными работами ввиду особенностей профессиональной деятельности, однако наибольшее опасение вызывает его воздействие на здоровье детского населения.

В процессе старения слои краски на поверхности начинают разрушаться, приводя к попаданию свинца в пыль и грунт вокруг жилых объектов и общеобразовательных учебных заведений. Образующаяся свинцовая пыль способна разноситься на большие расстояния, увеличивая площадь зоны фактического поражения.

Наибольшую опасность свинец представляет для детей в возрасте до шести лет, так как выделенная группа характеризуется особенностью поглощать его через грязные руки. Известны случаи, когда дети пробуют отслоившиеся кусочки краски на вкус. Окрашенные свинцовыми красками детские игрушки и мебель также могут способствовать поступлению свинца аналогичным путем непосредственно в желудочно-кишечный тракт. В среднем ребенок в возрасте до шести лет может поглощать до 100 мг домашней пыли и почвы ежедневно [3]. Также свинец может поступать в плод через организм матери, проникая через плаценту. Депонированный в костях свинец может повторно высвобождаться во время беременности, попадая в организм ребенка с грудным молоком [4].

Дети, по сравнению со взрослым населением, наиболее восприимчивы к воздействию свинца. Доказано, что хроническая экспозиция к свинцу может сопровождаться ментальными дефектами, отставанием в развитии, умственной отсталостью, потерей слуха и другими поражениями нервной системы более высокой тяжести [5].

Нормирование содержание свинца в лакокрасочных материалах в большинстве промышленно развитых стран началось с 1970-х-1980-х годов. На территории Российской Федерации действующее законодательство [6] ограничивает содержание химических веществ в красках, включая металлы, относящиеся к I классу опасности, количество которых в пересчете на сухой остаток превышает 0,5%. При этом указано, что содержание сиккативов и свинецсодержащих пигментов (крона свинцовые) в лакокрасочных материалах не должно превышать 15%. Однако, опыт мирового сообщества показывает, что установленный норматив не обеспечивает достаточный уровень безопасности промышленного сырья [7]. Эксперты в области общественного здравоохранения указывают, что безопасных уровней воздействия свинца не существует, поэтому рекомендуют ориентироваться на наиболее низкий технологически достижимый уровень его содержания. Производители красок вынуждены использовать ингредиенты, которые могут содержать примеси свинца, что говорит о невозможности полного отказа от его использования. В связи с этим, «Типовой закон и руководящий документ о регулировании содержащих свинец красок» [8] определило минимальный возможный уровень содержания свинца в 90 ppm. Почти все страны, которые в последние годы вводили ограничение на содержание свинца в красках, использовали ограничение в 90 ppm, являющееся общепризнанным экспертами в области здравоохранения, а также производителями красок и покрытий.

Такие разночтения в законодательных актах явились важной предпосылкой для определения общей согласованной точки зрения отрасли для формирования позиции российской стороны в переговорном процессе в ЕЭК ЕАЭС, результатом которого явилась разработка нового проекта Технического регламента «О безопасности лакокрасочных материалов», согласно

которому в составе лакокрасочных материалов для окрашивания внутренних поверхностей жилых и (или) общественных помещений, мебельной продукции, детских игровых площадок, изделий для детей и подростков, аттракционов, изделий, контактирующих с пищевыми продуктами и используемых для окрашивания оборудования водоочистки и водоподготовки, содержание свинца в пересчете на сухой остаток не должно превышать 0,009% (90 ppm) [9]. При введении нового ТР предусмотрен переходный период, призванный уменьшить издержки, неизбежные для производителей при изменении технологических процессов и актуализации документации.

Переход на более жесткий норматив подразумевает актуализацию методической базы, обеспечивающей аналитический контроль содержания свинца в лакокрасочной продукции. Методическая документация, действующая в настоящее время в РФ, не обеспечивает необходимую чувствительность, ограничиваясь нижними пределами обнаружения свинца 0,01% [10]. Универсальность применения указанных методов также недостаточна, так как их распространение ограничено жидкими и порошковыми красками до их нанесения на обрабатываемую поверхность, что является дополнительной предпосылкой к разработке нового метода.

Согласно проекту нового ТР, список контролируемых объектов должен включать краски, эмали, лаки, грунтовки, грунт-эмали, водно-дисперсионные ЛКМ, многокомпонентные ЛКМ, порошковые ЛКМ, ЛКМ в аэрозольной упаковке, лазури, пропитки, средства для защиты древесины, морилки для древесины, огнезащитные составы, декоративные штукатурки, шпатлевки, олифы. Таким образом, разрабатываемый метод должен обеспечивать контроль широкого спектра наименований продукции, независимо от их состава.

В настоящее время все большую популярность для промышленности и медицины набирают покрытия с биоактивными свойствами. В результате модификации, поверхностная структура таких красок становится матрицей для возможных физико-химических и биологических процессов. Эффективность материалов, представляющих собой нанопокрытия, содержащие ионы цинка и серебра, показали выраженные антимикробные свойства против таких микроорганизмов, как E. coli, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enterica, Staphylococcus aureus [11]. В проекте нового технического регламента «О безопасности лакокрасочных материалов» предложено ввести отдельные пункты, касающиеся лакокрасочных материалов с антимикробными свойствами. Перспективность применения такого типа покрытий в биомедицинской практике, стоматологии и медицине формирует проблему контроля и их соответствия требованиям нового технического регламента.

Метод контроля, удовлетворяющий столь низкому пределу обнаружения, а также позволяющий проводить анализ существующего ассортимента лакокрасочных материалов, в том числе и после их нанесения на обрабатываемую поверхность, был разработан в ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора в 2022 году [12]. Для реализации метода использована техника атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизации, являющаяся доступной для российских лабораторий, реализованная в отечественных приборах и позволяющая с высокой точностью работать на требуемых пределах обнаружения. При работе с красками и эмалями метод реализуется после нанесения лакокрасочного материала на поверхность, заведомо свободную от следов определяемого элемента (фанера), его высушивания и последующего сбора с поверхности шпателем. Далее сухую краску измельчают и переводят в раствор при помощи микроволновой минерализации.

При разработке метода была проведена его апробация на образцах красок и эмалей различного назначения, не имеющих выраженной пигментации [13]. Среди исследованных образцов преобладали белые краски и краски с серым оттенком. В результате исследований выявлено, что при повышении контрастности цвета (его перехода в серый оттенок) содержание свинца в образце существенно возрастало, по сравнению с белой краской, хотя и не превышало установленного международного норматива 90 ppm.

Подобная ситуация вызывает дополнительный интерес и свидетельствует о важности выполнения дополнительных исследований пигментных красок, выпускаемых на потребительские рынки.

Актуальность такого исследования повышается ввиду колоссального увеличения санкционных ограничений, которые определяют необходимость повышения производственных мощностей во всех отраслях промышленности, в том числе и лакокрасочной [14]. Максимальное импортозамещение подразумевает поиск возможностей скорейшей адаптации отрасли к стремительно изменяющейся законодательной среде в направлении улучшения здоровья населения.

Таким образом, целью данной работы являлось исследование содержание свинца в пигментных красках, приобретенных на потребительским рынке, с использованием разработанного метода электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии после предварительной микроволновой минерализации образцов.

Материалы и методы

Для проведения исследования на потребительском рынке в г. Москве были приобретены образцы краски 7 разных цветов двух российских производителей, отличающихся ценовым сегментом для разной целевой аудитории. Конкретные названия фирм-производителей не озвучиваются в настоящем исследовании ввиду отсутствия разрешения на публичное

использование торговой марки. Далее образцы краски эконом-класса обозначены как производитель А, образцы премиум-класса – образцы Б. Всего было отобрано 14 образцов краски, в банках массой 0,9 кг, 1,0 кг и 2,5 кг, в зависимости от наличия необходимого цвета в ассортименте производителя, представляющие собой эмали для внутренних и наружных работ на масляной основе. Следует отметить, что на заводской упаковке обоих брендов нет никаких отметок о содержании свинца, присутствуют только рекомендации, призывающие производить все работы в хорошо проветриваемых помещениях.

Данные образцы наносили на фанерные плашки, размером 300х300 мм в несколько слоев для формирования достаточного для отбора навески количества материала. Работы проводили в «чистом» помещении, где производится принудительная фильтрация внутреннего и нагнетаемого воздуха через HEPA-фильтры. Для более быстрого высыхания фанерные плашки помещали в сушильных шкаф и выдерживали при температуре 80^0 С до полного высыхания. Сухую краску собирали с поверхности шпателем, дополнительно измельчали в ступке и минерализировали при помощи микроволновой системы реакторного типа Milestone UltraWave.

Для проведения разложения в фторопластовые пробирки, совместимые с микроволновой системой, отбирали навеску 0,1 г каждого образца краски. Далее образцы последовательно заливали 4 $см^3$ 69% азотной кислоты и 1 $см^3$ деионизированной воды [15], соответствующей I классу чистоты по ГОСТ Р 52501-2005. После уменьшения видимых признаков протекания бурной реакции образцы погружали в реактор и проводили разложение согласно следующей программе: I стадия – выдержка при температуре 110^0С и давлении не более 90 атм. в течение 10 минут, II стадия – выдержка при температуре 180 ^{0}С и давлении не более 90 атм. в течение 10 минут, выдержка при температуре 230^0С и давлении не более 110 атм. в течение 20 минут.

Полученный минерализат количественно переносили в центрифужные пробирки вместимостью 50 $см^3$, доводили объем до 25 $см^3$ деионизированной водой и центрифугировали в течение 10 минут при скорости 10000 об/мин. Полученный супернатант декантировали в чистые полипропиленовые пробирки соответствующего объема и анализировали.

Для количественного анализа использовали атомно-абсорбционный спектрометр высокого разрешения ContrAA 800-D с источником излучения сплошного спектра при помощи техники электротермической атомизации. Измерения проводились на длине волны 283,3060 нм, коррекция фона осуществлялась автоматически при помощи программного обеспечения спектрометра. Для измерений была выбрана конфигурация, включающая измерения по трем оценочным пикселям. Температурный режим выбран согласно рекомендациям МУК 4.1.3799-22 [12]. С целью повышения прецизионности измерения проводились при троекратном повторении. Достоверность метода проверена при помощи метода добавок.

Результаты и обсуждение

Результаты, полученные при измерении содержания свинца в красках сведены в таблицы 1 и 2 и выражены в виде усредненной концентрации по результатам измерений трех параллельных проб вместе с величиной их стандартного отклонения.

Таблица 1. Результаты измерения концентрации свинца в красках производителя А

Цвет	**Концентрация Pb в пересчете на сухой вес,**			**Количество измерений**
	ppm	**%**	**СКО, %**	
Желтый	322,63	0,0323	3,2	3
Красный	149,18	0,0149	1,4	3
Белый	36,24	0,0036	2,8	3
Синий	94,81	0,0095	1,9	3
Зеленый	173,02	0,0173	2,6	3
Черный	74,39	0,0074	4,3	3
Оранжевый	211,55	0,0212	3,6	3

Анализируя полученные результаты для красок производителя А, можно отметить превышения планируемого к установлению норматива в 90 ppm у красок желтого, красного, синего, зеленого и оранжевого цветов. При этом содержание свинца в зависимости от цвета убывает в порядке: желтый, оранжевый, зеленый, красный, синий, черный, белый.

Таблица 2. Результаты измерения концентрации свинца в красках производителя Б

Цвет	**Концентрация Pb в пересчете на сухой вес**			**Количество измерений**
	ppm	**%**	**СКО, %**	
Желтый	196,13	0,0196	4,1	3
Красный	131,09	0,0131	2,5	3
Белый	11,66	0,0012	5,2	3
Синий	27,23	0,0027	2,0	3
Зеленый	112,88	0,0113	3,6	3
Черный	61,47	0,0061	2,2	3
Оранжевый	185,88	0,0186	1,7	3

Исходя из данных, полученных для красок производителя Б, наблюдаются превышения планируемого к принятию норматива для желтого, красного, зеленого и черного цветов. Содержание свинца в зависимости от цвета убывает в порядке: желтый, оранжевый, красный, зеленый, черный, синий, белый.

Для наглядного сравнения содержания свинца в красках двух производителей приведена соответствующая диаграмма (Рисунок 1).

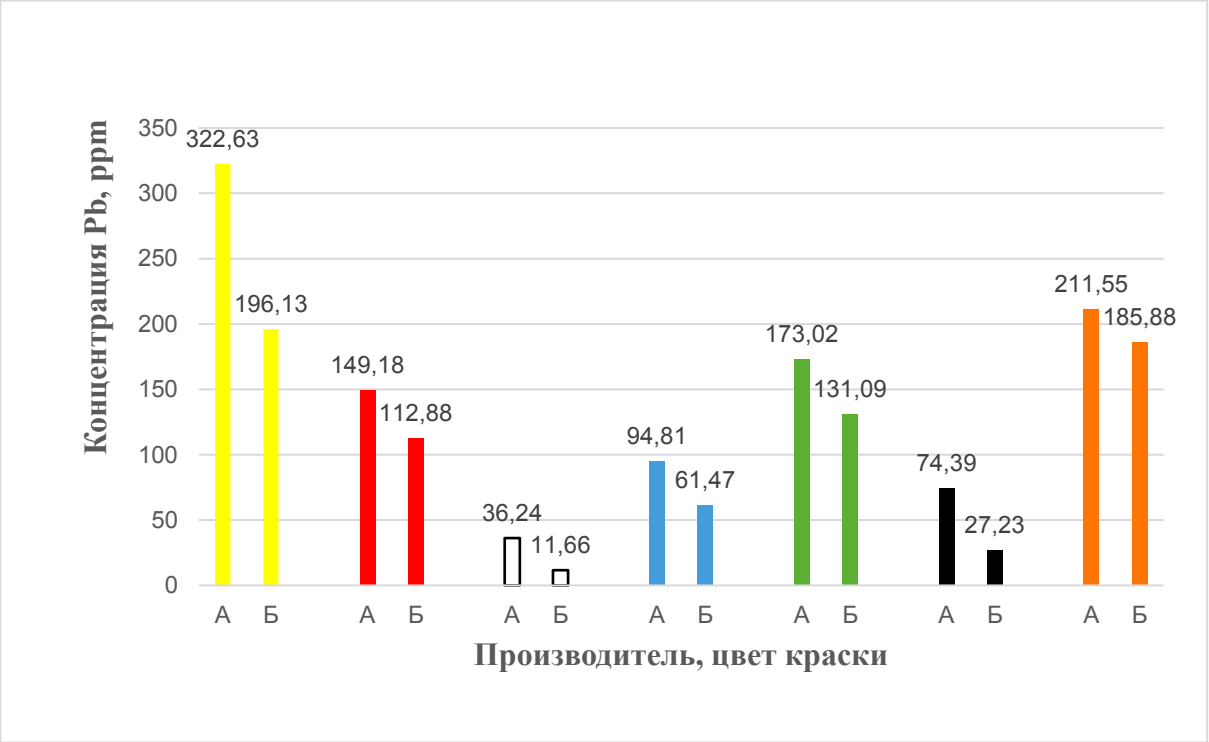


Рисунок 1. Сравнение содержания свинца в красках различных производителей. А – производитель эконом-класса; Б – производитель премиум-класса. Цвет столбца на диаграмме соответствует цвету исследуемой краски

Таким образом, при сравнении продукции двух производителей для различных целевых групп потребителей очевидно прослеживается меньшее содержания свинца в красках премиум-класса по сравнению с эконом-сегментом. При этом в желтой и оранжевой краске содержание свинца оказалось самым большим среди других оттенков в обоих сегментах, вне зависимости от производителя. Как и следовало ожидать исходя из результатов предыдущих исследований, белая краска без пигмента оказывается наименее контаминированной у обоих производителей. Определенной согласованности в изменении концентрации свинца в красках других оттенков у обоих производителей обнаружить не удалось: например, содержание свинца в зеленой краске оказалось больше его содержания в красной у производителя эконом-класса, напротив в премиальной краске содержания свинца в красной краске выше, чем в зеленой. Аналогичная

обратная зависимость наблюдается с синими и черными цветами: синяя эконом-краска более контаминирована по сравнению с черной, напротив у премиальной краски черный цвет более загрязнен по сравнению с синим.

Полученные результаты наглядно демонстрируют, что вне зависимости от бренда содержание свинца не всегда соответствует предполагаемому к установлению в новом техническом регламенте нормативу. Белый, черный и синий оттенки соответствуют требованиям нового технического регламента, однако концентрация свинца в синем пигменте у производителя «А» слегка превышает установленный норматив, что еще раз подтверждает масштабность проблемы свинца в красках.

Полученные результаты вызывают особую настороженность ввиду того, что в настоящее время на территории Российской Федерации не существует единых требований по сертификации лакокрасочных материалов, которая проводится либо в соответствии с установленными ТУ, либо с «Едиными Санитарно-эпидемиологическими нормами, действующими на территории РФ» Раздел 5 [6]. Требования к товарам бытовой химии и лакокрасочным материалам», соответственно наблюдаемая контаминация не является нарушением действующего законодательства.

Заключение

В результате проведенного исследования показано, что наличие свинца в лакокрасочных материалах остается одной из глобальных проблем даже на современном уровне развития промышленности. Опыт мирового сообщества показывает, что даже в странах, где свинцовые краски были запрещены уже более десяти лет назад, до сих пор можно встретить окрашенные свинцом поверхности, также отмечаются повышенные уровни свинца в крови детей. Соответственно, чем раньше будет принято решение о введении в действие нового технического регламента «О безопасности лакокрасочных материалов», тем быстрее удастся решить контаминацию окружающей среды соединениями свинца.

Для установления соответствия лакокрасочной продукции новым требованиям предложен метод атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией, изложенный в соответствующих методических указаниях [12].

На основании данного метода проведена экспериментальная оценка отдельных лакокрасочных материалов с разными пигментами, представленных на потребительском рынке г. Москвы на предмет загрязнения свинцом. В результате проведенного исследования обнаружено превышение международного норматива в красках всех цветов, кроме белой, черной и синей, вне зависимости от целевого сегмента производителя.

Таким образом, следует сделать вывод о необходимости строгого контроля лакокрасочных производств с вовлечением аккредитованных лабораторий на основании

разрабатываемого технического регламента с установленным нормативом, соответствующим мировым рекомендациям. Предлагаемый метод атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией актуален в условиях санкций и нехватки лабораторных мощностей, а его применение должно способствовать реализации перспективного регламента о свинце в лакокрасочных материалах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Megertu D. Heavy metal contents of selected commercially available oil-based house paints intended for residential use in Ethiopia / D.G. Megertu, L.D. Bayissa // Environmental Science and Pollution Research. – 2020. – Vol. 27. – P. 17175 – 17183.

2. FAQ – Questions and Answers about Lead Paint and Lead Paint Laws. – Текст: электронный. -–URL: https://www.unep.org/explore-topics/chemicals-waste/what-we-do/emerging-issues/global-alliance-eliminate-lead-paint/faq#Limits (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

3. WHO – Childhood Lead Poisoning. – Текст: электронный. – URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/136571/9789241500333_eng.pdf?sequence=1 (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

4. IPEN. Национальный доклад «Содержание свинца в красках для бытового применения в России». 2016 г. – Текст: электронный. – URL: https://docs.yandex.ru/docs/view?tm=1706286719&tld=ru&lang=ru&name=Lead_in_Solvent-Based_Paints_for_Home_Use_in_Russia-RU.pdf (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

5. Привалова Л.И. О влиянии экологически обусловленной экспозиции к свинцу на здоровье и развитие детей в промышленных городах среднего Урала / Л.И. Привалова [и др.] // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». – 2010. – т.2, №4. – С. 554 – 565.

6. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)*. Глава II. Раздел 5. Требования к товарам бытовой химии и лакокрасочным материалам (с изменениями на 14.11.2023 г.) [Текст]. – Утверждены Решением Комиссии таможенного союза от 28.05.2010 №299. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 707 с.

7. Final Review of Scientific Information on Lead - Version of December 2010. – Текст: электронный. – URL: https://wedocs.unep.org/20.500.11822/27635 (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

8. The United Nations Environment Programme Revised July 2018 - Model Law and Guidance for Regulating Lead Paint (Типовой закон и руководящий документ о регулировании содержащих

свинец красок). – Текст: электронный. - URL: https://wedocs.unep.org/20.500.11822/27635 (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

9. Евплонова Е.С. Технический регламент «О Безопасности Лакокрасочных Материалов». Реальность и перспективы // XVIII Международная конференция «Рынки лакокрасочных материалов и сырья для ЛКМ». – 2021 г. – Текст: электронный. – URL: http://www.rqpa.ru/static/images/presentation/%D0%A2%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9%20%D1%80%D0%B5%D0%B3%D0%BB%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%20%D0%9E%20%D0%B1%D0%B5%D0%B7%D0%BE%D0%BF%D0%B0%D1%81%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B8%20%D0%9B%D0%9A%D0%9C%20%D0%A1%D0%BE%D1%87%D0%B8%202021.pdf (Дата обращения 26.01.2024). – Режим доступа: открытый.

10. Тарасова, Е. В. Обзор аналитических методов контроля содержания свинца в лакокрасочных материалах / Е. В. Тарасова, Х. Х. Хамидулина, А. К. Назаренко // Токсикологический вестник. – 2022. – Т. 30, № 1. – С. 55-63. – doi: 10.47470/0869-7922-2022-30-1-55-63

11. Тучина Е.С. Изучение антибактериальных свойства покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Zn) в матрице диоксида кремния / Е.С. Тучина, Г.А. Гвоздев, И.Д. Кособудский // Изв. Сарат. Ун-та. Нов. Сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2018. – Т.18, вып. 2. – 5 с.

12. МУК 4.1.3799-22. Метод контроля содержания свинца в лакокрасочных материалах : методические указания : утверждены и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой 01 декабря 2022 г. : введены впервые : дата введения с момента утверждения / разработаны ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (С.В. Кузьмин, Х.Х. Хамидулина, М.В. Егорова, Е.В. Тарасова, А.С. Родионов, Ю.Ю. Богданова, А.К. Назаренко). - Москва: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2022. – 16 с.

13. Разработка методических указаний по контролю содержания свинца в лакокрасочных материалах / Н. Е. Федорова, М. В. Егорова, А. С. Родионов [и др.] // Токсикологический вестник. – 2022. – Т. 30, № 5. – С. 323-331. – doi: 10.47470/0869-7922-2022-30-5-323-331.

14. Шабыкова М.А. Направления развития промышленности России в условиях санкционных ограничений / М.А. Шабыкова //Финансовые рынки и банки. – 2023. - №1. – С. 115 – 120.

15. ГОСТ Р 52501-2005 (ИСО 3696:1987). Вода для лабораторного анализа. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2005.

СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТКИ К ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ФАКТОРОВ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ И СРЕДЫ ОБИТАНИЯ КАК ОСНОВА ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Ю.В. Рябова, К.М. Никогосян, В.А. Батенева

Введение

Проблема сохранения здоровья населения и обеспечения профессионального долголетия представляется важной социально-экономической задачей, требующей многопланового подхода, в том числе развития новых реабилитационно-оздоровительных технологий с учетом современных научных знаний. Статус генерального в этой области сохраняет направление, нацеленное на снижение интенсивности воздействия на организм вредных факторов: разработка гигиенических нормативов, требований и мероприятий. Но в условиях, когда нельзя полностью устранить действие фактора химической, физической или даже климатической природы, развитие профилактической стратегии, ставящей целью повышение резистентности организма, становится актуальным.

Развитие патологических состояний на фоне воздействия вредных факторов производственной среды и среды обитания так или иначе связано с изменением функционирования клеток, при воздействии на которых избыточные стимулы приводят не к адаптации, следствием которой является достижение нового функционального состояния в изменившихся условиях, а к повреждению вследствие недостаточности адаптационного резерва. До определенного предела повреждение клетки обратимо, но, если неблагоприятный фактор действует длительно (и/или интенсивно), наступает необратимое повреждение клетки и ее гибель, которые могут выступать первопричиной развития патологического процесса. Вместе с тем, негативное воздействие факторов среды создает только лишь вероятность нарушения здоровья, реализация которой на индивидуальном уровне вариабельна ввиду различий чувствительности к ней и эффективности защитно-компенсаторных механизмов. «Биологическая профилактика», профилактическая стратегия, развиваемая коллективом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП уже практически полвека, нацелена именно на усиление естественных защитных механизмов организма и его адаптационного потенциала, не затрагивая условия производственной среды и среды обитания.

Таким образом, **целью** настоящей работы является рассмотрение способов повышения устойчивости клетки к повреждающему действию факторов производственной

среды и среды обитания на ее структуру и функции как основы профилактических воздействий на организм на молекулярном уровне.

Материалы и методы

Токсикологические эксперименты *in vivo* проводились на крысах возрастом около 4 месяцев на начало эксперимента. Начальная масса тела животных составляла 200-220 г, диапазон колебания массы животных не превышал ±10% от средней массы. Каждая экспериментальная группа включала в себя не менее 10 животных. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с общепринятыми требованиями, а также с учетом рекомендаций ARRIVE. Статистическую значимость различий между средними арифметическими значениями групп оценивали с помощью t-критерия Стьюдента с поправкой на множественные сравнения.

Для оценки эффективности снижения цитотоксического действия наночастиц (далее – НЧ) оксида свинца (частицы размером 18,2 ± 4,2 нм были синтезированы генератором DNP 3000 и подавались в ингаляционную установку типа «только нос» в концентрации 1,55 ± 0,06 мг/м^3) были использованы крысы-самки, разделенные на 3 группы: контрольную, «НЧ PbO» и «НЧ PbO + БП» (последняя группа животных получала на фоне интоксикации свинцом биопрофилактический комплекс (далее – БПК), содержащий на каждое животное 200 мг пектина, 12,5 мг глицина, 2,5 мг рутина и витамина С, смесь ω-3 полиненасыщенных жирных кислот с преобладанием докозагексаеновой, не менее 45 %, и эйкозапентаеновой кислоты, не менее 40 %, 13,3 мг, Витамины группы В (В1 – 0,06 мг, В2 – 0,07 мг, В3 – 0,75 мг, В5– 0,15 мг, В6 – 0,08 мг, В9 – 3,3 мкг, В12 – 0,08 мкг), 0,15 мкг витамина D_3, 0,235 мг на крысу витамина Е, 4,5 мкг йода, 163,5 мг кальция и 1,5% раствор глютаминовой кислоты вместо питья). Интоксикация моделировалась с помощью ингаляционного воздействия в камере типа «только нос» 4 часа в день, 5 дней в неделю, в течение 4 недель (протокол Локального этического комитета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП № 5 от 16 октября 2023 г.). По завершению экспозиции, на следующий день после последней ингаляции, у крыс проводился забор жидкости бронхоальвеолярного лаважа (далее - БАЛЖ) под гексаналовым наркозом. Из осадка БАЛЖ, отцентрифугированного в течение 4 мин. при 200 г, готовились мазки, которые окрашивались азур-эозином и микроскопировались с иммерсией при увеличении х1000. Дифференциальный подсчёт для определения процента альвеолярных макрофагов (далее - АМ), нейтрофильных лейкоцитов (далее - НЛ) и прочих клеток проводился до общего числа подсчитанных клеток, равного 100. С учётом общего числа клеток в БАЛЖ эти проценты пересчитывались на абсолютное число АМ и НЛ.

Для оценки эффективности снижения вредного действия ацетата свинца на показатели красной крови были использованы крысы-самцы, разделенные на 3 группы: контрольную, «Свинец» и «Свинец + БП» (последняя группа животных получала на фоне интоксикации свинцом БПК, содержащий на каждое животное 200 мг пектина, 30 мг ацетилцистеина, 12 мг глицина, 1,4 мг рутина и витамина С, смесь ω-3 полиненасыщенных жирных кислот с преобладанием докозагексаеновой, не менее 45 %, и эйкозапентаеновой кислоты, не менее 40 %, 13,3 мг, 160 мг кальция, 1,18 мг магния, 1,32 мг калия, 4 мкг йода, 2 мкг селена, 1,64 мкг витамина D_3 и 1,5% раствор глютаминовой кислоты вместо питья). Интоксикация моделировалась путем повторных внутрибрюшинных введений токсиканта 3 раза в неделю в течение 6 недель, разовая доза ацетата свинца составила 11 мг/кг м.т (протокол Локального этического комитета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП №8 от 8 ноября 2018 г.). По завершению экспозиции кровь животных была оценена с помощью гематологического анализатора Mythic 18, ретикулоциты подсчитывались рутинным способом.

Для оценки эффективности снижения вредного действия НЧ оксида селена (стабильные частицы синтезированы методом лазерной абляции, сферической формы, размером 51 ± 14 нм) на показатели биоэнергетического обмена были использованы крысы-самцы, разделенные на 3 группы: контрольную, «НЧ SeO» и «НЧ SeO + БП» (последняя группа животных получала на фоне интоксикации свинцом БПК, содержащий на каждое животное 200 мг пектина, 12 мг глицина, 1,4 мг рутина и витамина С, смесь ω-3 полиненасыщенных жирных кислот с преобладанием докозагексаеновой, не менее 45 %, и эйкозапентаеновой кислоты, не менее 40 %, 13,3 мг, 0,69 мкг витамина В12 (цианкоболамин), 1,04 мкг витамина D_3 и 1,5% раствор глютаминовой кислоты вместо питья). Интоксикация моделировалась путем повторных внутрибрюшинных введений 3 раза в неделю в течение 6 недель, разовая доза вводимой суспензии НЧ составила 36мг/кг м.т (протокол Локального этического комитета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП №2 от 20 апреля 2021 г.). По завершению экспозиции кровь животных была оценена с помощью гематологического анализатора Mythic 18, ретикулоциты подсчитывались рутинным способом.

Результаты и обсуждения

Действие наночастиц оксида свинца (НЧ PbO) связано с развитием цитотоксической реакции: они способны проникать через клеточные мембраны, взаимодействовать с белковыми макромолекулами и нарушать функции органелл [1]. Ингаляционное воздействие НЧ PbO 5 дней в неделю, по 4 часа в день, в течение 4 недель,

при концентрации 1,55 ± 0,06 мг/м^3 вызывало цитотоксический эффект, о наличии которого косвенно судили по изменению клеточного состава БАЛЖ и, в особенности, по повышению в 2,9 раз соотношения НЛ к АМ в БАЛЖ. Кроме того, в надосадочной жидкости БАЛ отмечали статистически значимое увеличение содержания щелочной фосфатазы (ЩФ), и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), последняя из которых является важным маркером клеточной деструкции [2,3].

При ингаляционном воздействии главной клеткой-мишенью цитотоксического действия НЧ являются макрофаги, в частности АМ, которые не способны к обратной миграции в легочный интерстиций. Процесс фагоцитоза делает невозможной пенетрацию частицы, повышая вероятность ее пассивного продвижения вместе с клеткой в зону действия мукоцилиарного транспорта. Разрушение АМ приводит к освобождению частицы, тем самым способствуя ее пенетрации в интерстициальную ткань и лимфоток. В результате повреждения клетки активируется реакция альвеолярного фагоцитоза, не только за счет активации АМ, но и притока НЛ в ответ на продукты разрушения АМ. Известно, что чем более цитотоксичными оказываются чужеродные частицы – то есть, чем больше повреждений происходит под их влиянием в легочной ткани либо в популяции фагоцитирующих клеток – тем больший приток НЛ наблюдается [4]. НЧ PbO показали высокую способность к цитотоксичности [5].

При аналогичном воздействии, но на фоне употребления БПК, этот вредный эффект полностью нивелировался и достиг уровня контрольных значений ($p < 0,05$). Положительный эффект обусловлен одномоментным воздействием компонентов биопротекторного комплекса, нацеленных на разные точки приложения – с одной стороны, воздействием энтеросорбента пектина и антагониста кальция и магния, повышенное поступление с пищей которых также снижает абсорбцию свинца, с другой – мембрано-стабилизирующее действие глютамата, подавляющее действие свободнорадикальных реакций в липидном бислое клеток витамина Е, антиоксидантное и противовосполительное действие смеси ω-3 полиненасыщенных жирных кислот, витамина D_3, рутина и витамина С.

Свинец оказывает токсическое действие и на красную кровь: угнетает синтез гемоглобина и приводит к микроцитарной анемии при нормальном уровне железа, что характеризуется активацией компенсаторных механизмов и повышением уровня ретикулоцитов периферической крови. В результате проведенных исследований при субхронической экспозиции ацетатом свинца в дозе 11 мг/кг м.т. у животных были обнаружены следующие изменения: увеличилась доля ретикулоцитов периферической крови более чем в 3 раза, средний объем эритроцита снизился на 30%, средняя

концентрация гемоглобина в эритроците – на 4,4%. Согласно упомянутым изменениям, увеличилась практически в 2 раза ширина распределения эритроцитов. При воздействии БПК наблюдались положительные сдвиги упомянутых показателей: уровень ретикулоцитов периферической крови снизился на 40%, средний объем эритроцита увеличился на 5%, средняя концентрация гемоглобина в эритроците нормализовалась до уровня контрольных значений. Ширина распределения эритроцитов снизилась на 8,3%.

Воздействие свинца пагубно влияет на работу многих органов и систем, в том числе затрагивает красную кровь и нарушает кислородный гомеостаз организма. Химические вещества, обладающие цитотоксическим действием, имеющие различные «точки приложения» для воздействия в клетке. Так, она может утратить целостность мембраны и быстро погибнуть в результате лизиса, либо процесс может протекать медленнее, и тогда будет снижаться жизнеспособность клеток или в них будет активирован генетически регулируемый процесс программируемой гибели клеток. В частности, под влиянием свинца происходит пероксидация липидов мембран эритроцитов, в результате чего нарушается структура белков мембраны, что приводит к быстрой гибели клетки, а на уровне целостного организма закономерно наблюдается ретикулоцитоз [6], типичное проявление воздействия свинца [7,8]. Кроме сокращения продолжительности жизни циркулирующих эритроцитов, из-за повышения хрупкости клеточных мембран, вредное действие ацетата свинца реализуется за счет ограничения синтеза гемоглобина путем ингибирования различных ключевых ферментов – именно это сочетание приводит к свинец-индуцированной анемии и компенсаторному ретикулоцитозу.

В группе, подвергающейся воздействию ацетата свинца на фоне приема БПК, указанные вредные эффекты были существенно снижены за счет следующих компонентов биопротекторного комплекса: энтеросорбента пектина, антагонистов свинца – кальция и магния, повышенное поступление с пищей которых снижает абсорбцию свинца, а также антиоксидантов (ω-3 полиненасыщенных жирных кислот, витамина С, рутина и селена). Механизмы защитного действия компонентов биопротекторного комплекса сложны и, по-видимому, взаимно потенцируют друг друга. Витамины способствуют повышению неспецифической сопротивляемости организма к действию вредных факторов, а также оказывают корригирующее действие на обменные процессы. Наряду с этим, некоторые витамины, активирующие ферментные системы, повреждаемые свинцом, могут играть роль специфического протектора соответствующей интоксикации.

Известно, что митохондрии являются важными мишенями практически для всех типов повреждающих агентов, включая токсины и оксидативный стресс, которые способны индуцировать НЧ [3]. Митохондриальную дисфункцию часто трудно измерить и доказать

[9], однако существуют маркеры, по изменению которых можно ее предположить. Сукцинатдегидрогеназа (далее - СДГ) – митохондриальный фермент, закрепленный на ее внутренней мембране. Он участвует как в цикле трикарбоновых кислот, так и цепи переноса электронов в митохондриях, и связывает эти два процесса [10]. Дисфункция СДГ имеет большое значение в медицинской практике, поскольку обуславливает широкий спектр нарушений за счет снижения функции митохондрий и последующего биоэнергетического потенциала клетки. Субхроническое воздействие НЧ SeO в дозе 36 мг/кг м.т. вызывало снижение активности СДГ в ядросодержащих клетках периферической крови на 11,6% ($p < 0,05$), а у животных, которые при той же экспозиции получали БПК, она, напротив, возросла на 5,5%, что можно рассматривать как положительный признак ($p < 0,05$ против групп «НЧ SeO», «Контроль»). Токсичность НЧ SeO может быть обусловлена неспецифической заменой серы на селен ввиду частичного растворения НЧ в биосредах, в серосодержащих аминокислотах и, как следствие, изменениями в третичной структуре белка. Другая гипотеза предполагает, что повышенные концентрации селена нарушают окислительно-восстановительный баланс в организме [11]. В то же время, как и любые другие НЧ [3], SeO НЧ способны сами по себе индуцировать окислительный стресс [12]. Механизмы защитного действия компонентов биопротекторного комплекса, основаны, в первую очередь, на антиоксидантном синергизме рутина и витамина С, усиливающих эффекты друг друга. Кроме того, учтено возможное действие на параметры системной токсичности, проявляющиеся снижением активности СДГ - поскольку системная токсичность НЧ зависит от их химической природы, включая токсические эффекты, характерные для этого элемента, в состав комплекса был включен витамин В12. Согласно литературным данным [11], он участвует в реакциях синтеза S-аденозилметионина, способствующего снижению токсического действия селена и его выведению из организма и способствующего снижению вредного действия селена [13].

Выводы

Таким образом, показана принципиальная возможность повышения устойчивости клетки к повреждающему действию факторов производственной среды и среды обитания, что может служить основой профилактических воздействий на организм на молекулярном уровне. Эффективное снижение индивидуального риска в условиях неминуемого воздействия факторов производственной среды и среды обитания может быть достигнуто только на базе оптимального подбора биопротекторов, воздействующих не только на общие, но и на специфичные патогенетические механизмы действия конкретных факторов производственной среды и среды обитания.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллективу отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора за неоценимый вклад в реализацию данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Manifestation of Systemic Toxicity in Rats after a Short-Time Inhalation of Lead Oxide Nanoparticles / M.P. Sutunkova, S.N. Solovyeva, I.N. Chernyshov [et al.] // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21, No 3. – Pp.690. – doi: 10.3390/ijms21030690.

2. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models / H. Bahadar, F. Maqbool, K. Niaz [et al.] // Iran Biomed J. – 2016. –Vol. 20, No 1. – Pp.1-11. – doi: 10.7508/ibj.2016.01.001.

3. Nanoparticle Toxicology / W. Yang, L. Wang, E.M. Mettenbrink [et al.] // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2021. – Vol. 61. – Pp. 269-289. – doi: 10.1146/annurev-pharmtox-032320-110338.

4. On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure / M.P. Sutunkova, B.A. Katsnelson, L.I. Privalova [et al.] // Toxicology. – 2016. – Vol. 1. – Pp.19-28. – doi: 10.1016/j.tox.2016.07.006. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27424278.

5. Comparative Evaluation of the Cytotoxic Effects of Metal Oxide and Metalloid Oxide Nanoparticles: An Experimental Study / M.P. Sutunkova, S.V. Klinova, Y.V. Ryabova [et al.] // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. No 9. – Pp. 8383. – doi: 10.3390/ijms24098383.

6. Flora, G. Toxicity of lead: A review with recent updates / G. Flora, D. Gupta, A. Tiwari. // Interdiscip Toxicol. – 2012. – Vol. 5, No 2. – Pp.47-58. – doi: 10.2478/v10102-012-0009-2.

7. Kalahasthi, R. Effect of Lead Exposure on the Status of Reticulocyte Count Indices among Workers from Lead Battery Manufacturing Plant / R. Kalahasthi, T. Barman. // Toxicol Res. – 2016. – Vol. 32, No.4. – Pp. 281-287. – doi: 10.5487/TR.2016.32.4.281.

8. Bain, B.J. Lead poisoning // Am J Hematol. – 2014. – Vol. 89, No.12. – Pp. 1141. – doi: 10.1002/ajh.23852.

9. Blood biomarkers for assessment of mitochondrial dysfunction: An expert review / W.H.G. Hubens, A. Vallbona-Garcia, I.F.M. de Coo [et al.] // Mitochondrion. – 2022. – Vol. 62. – Pp.187-204. – doi: 10.1016/j.mito.2021.10.008.

10. Rutter, J. Succinate dehydrogenase - Assembly, regulation and role in human disease / J. Rutter, D.R. Winge, J.D. Schiffman // Mitochondrion. – 2010. – Vol. 10, No. 4. – Pp. 393-401. – doi: 10.1016/j.mito.2010.03.001.

11. Use of an antiarrhythmic drug against acute selenium toxicity / U. Mercan Yücel, Y. Başbuğan, A. Uyar Coo [et al.] // J Trace Elem Med Biol. – 2020. – Vol.59. – Pp.126471. – doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126471.

12. Kondaparthi, P. Selenium nanoparticles: An insight on its Pro-oxidant and antioxidant properties / P. Kondaparthi, S.J.S. Flora, S. Naqvi //Front. Nanosci. Nanotech. – 2019. – Vol. 6. – Pp. 1–5. – doi: 10.15761/FNN.1000189.

13. Gad, M.A. Selenium toxicosis assessment (in vivo and in vitro) and the protective role of vitamin B12 in male quail (Coturnix Coturnix) / M.A. Gad, S.M. Abd El-Twab // Environ Toxicol Pharmacol. – 2009. – Vol. 27, No.1. Pp. 7-16. – doi: 10.1016/j.etap.2008.07.001.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСЛОВИЙ АРКТИЧЕСКОГО КЛИМАТА НА ОРГАНИЗМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

М.В. Семенихина, С.П. Романенко, А.П. Лачугин

Федеральное бюджетное учреждение науки "Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Аннотация. В статье представлены результаты экспериментального исследования на лабораторных животных (крысы линии Вистар), проведенного с целью изучения патологических эффектов сочетанного воздействия холодового фактора и необычного фотопериодизма (полярная ночь и полярный день). Несмотря на то, что арктическая зона и территории, приравненные к ней, являются перспективными для страны как в экономическом, так и в геополитическом плане, они остаются сложными для проживания из-за своих климатогеографических особенностей, сопровождающихся высокой заболеваемостью населения на этой территории [1-3]. Данное исследование характеризует отдельные механизмы влияния низких температур и необычного фотопериодизма на организм, помогает определить средства предотвращения и профилактики данных нарушений.

Ключевые слова: арктическая зона, синдром полярного напряжения, влияние низких температур и фотопериодизма на организм.

Введение. Учитывая, что Северные территории России являются важным источником природных ресурсов, активное их освоение неразрывно связано с притоком большого числа работающего населения. Арктическая зона характеризуется: низкими температурами воздуха; высокими показателями жесткости погоды; усиленным ветровым режимом; необычным фотопериодизмом; повышенной влажностью воздуха в определенные периоды года; неустойчивой и повышенной геомагнитной напряженностью; повышенным электромагнитным фоном. Комплексное воздействие специфических для арктической зоны факторов могут повышать риски формирования болезней системы кровообращения, эндокринной системы, иммунной системы, нервной системы, опорно-двигательного аппарата [1-3].

Цель работы: изучить патологические эффекты сочетанного воздействия холодового фактора и необычного фотопериодизма (полярная ночь и полярный день) на лабораторных животных (крысы линии Вистар).

Материалы и методы. Объект исследования: молодые, здоровые, взрослые лабораторные крысы линии Вистар, сгруппированные в 2 группы по 12 особей: опытная – находилась в стандартных условиях «Северных территорий» с контролируемым режимом

освещения (14 дней - «Полярная ночь: 22 часа ночь, 2 часа свет», температура в помещении + 4-6 °С; 14 дней - «Полярный день: 22 часа - свет, 2 часа - ночь», температура в помещении + 4-6 °С), контрольная – находилась в комфортных условиях лаборатории. Продолжительность исследования составляла 28 дней. На 1-й, 14-й (стадия первичных реакций) и 28-й (стадия физиологической адаптации) дни эксперимента измеряли массу тела, регистрировали динамику эмоционально-поведенческих реакций, проводили токсикологические, гематологические и биохимические исследования крови, в конце исследования отбирались ткани для гистологического и патоморфологического исследований. Полученные цифровые данные подвергнуты статистическому анализу. Допустимым уровнем достоверности результатов считалась вероятность различий в 95% и выше ($p < 0,05$).

Основные результаты. При сравнении показателей массы тела и температуры тела у крыс контрольной и опытной групп статистически значимых различий по показателям на 14 и 28 день эксперимента не установлено. В опытной группе на 14 сутки у самцов и самок отмечались низкие значения температуры тела, что свидетельствует о низких адаптивных способностях.

Регистрация показателей ориентировочно-исследовательского поведения (горизонтальная двигательная активность (ГДА) и вертикальная (ВДА), эмоциональная реактивность, груминг реакции) осуществлялась на протяжении 28 суток эксперимента с помощью метода «Открытое поле» [4]. По данным научной литературы, уже начальные адаптивные сдвиги, возникающие в ответ на воздействие раздражителей, отражаются на поведении животных [5]. При сравнении показателей ориентировочно-исследовательского поведения у крыс опытной и контрольной групп установлено, что, в условиях стресса у самок и самцов повышалась ГДА - у самок статистически значимо на 14 день ($p=0,005$) у самцов на 28 день ($p=0,005$). ВДА повышалась у самок на 28 день. Эмоциональная активность была выше на 28 сутки у самок и самцов в контрольной группе. Частота груминга была низкая у самцов на 28 день. Таким образом, развитие тревожности на фоне стресса у лабораторных животных достигало максимальных значений в условиях «полярного дня». Следовательно, у самцов превалирует ГДА, а у самок - ВДА. Самцы активнее ночью, самки - днём. Исследовательская деятельность у самцов повышается в условиях «полярной ночи» и резко снижается в условиях «полярного дня». Гендерные различия в уровне тревожности на фоне стресса: самцы в большей степени подвержены тревожности, чем самки. Тревожность снижает когнитивные функции. Регистрируемые показатели, ориентировочно-исследовательского поведения в группах наблюдения были статистически значимо выше в сравнении с группами контроля.

В опытной группе отмечались статистически значимые низкие уровни холестерина на 14 сутки эксперимента ($p=0,0001$) и 28 сутки эксперимента ($P=0,0003$); снижение уровня глюкозы крови на 14 сутки ($p=0,001$) и повышение на 21 сутки эксперимента ($p=0,00003$); повышение

уровня трансаминаз: ALT на 14 сутки (p=0,007) и 21 сутки (p=0,00003), AST – на 14 сутки (p=0,006) и 28 сутки (p=0,006); развитие гипогликемии на 14 и 28 сутки эксперимента, повышение ALT и гипохолестеринемия; снижение уровня лейкоцитов (p=0,707) и выраженная лейкопения на 28 сутки (p=0,00003), на 28 сутки эксперимента снижался средний объем тромбоцитов (p=0,002).

Сравнительная характеристика показателей мочи в опытной группе к 14 дню: отмечалось повышение эритроцитов в моче (p 0,00*), белка (p 0,00*), глюкозы (p 0,00*), кислотности (p 0,04*), по сравнению с контрольной. На 28 сутки эксперимента эта тенденция сохранилась. Так отмечалось повышение в моче: уробилиногена (p 0,04*), билирубина (p 0,03*), кетоновых тел (p 0,012*), эритроцитов (p 0,00*), белка (p 0,00*), лейкоцитов (p 0,00*), глюкозы (p 0,00*), кислотности (p 0,042*).

Гистологическое исследование тканей по опытной группе выявило наиболее выраженные изменения во внутренних органах (миокарде, печени) по сравнению с контрольной группой. Наиболее часто встречающимися морфологическими изменениями в срезах ткани миокарда были эритроцитарные тромбы в сосудах, дистрофия кардиомиоцитов, отёк межуточной ткани; в срезах печени - полнокровие с тромбозом центральных вен и синусоидов, паретическое расширение центральных вен, дистрофия гепатоцитов; в легких - неравномерное кровенаполнение, очаговые кровоизлияния, утолщение стенок сосудов с гиалинозом, утолщение межальвеолярных перегородок, полнокровие с очаговой лимфоцитарной инфильтрацией; в почках - неравномерное кровенаполнение и наличие тромбов в сосудах артериального русла, очаговая лимфоцитарная инфильтрация стромы, дистрофия эпителия извитых канальцев с апикальными повреждениями эпителия; в селезенке - неравномерное кровенаполнение и эритроцитарные тромбы в сосудах, гиперплазия лимфоидной ткани.

Вывод. В результате эксперимента обнаружены выраженные биохимические и морфогистологические изменения в органах и тканях животных опытной группы. Предполагается, что из-за постоянного воздействия холодового фактора (+ 4-6 °C), приводящего к спазму сосудов и нарушениям реологических свойств крови (загустевание крови), нарушался гомеостаз, происходил гемолиз эритроцитов, нарушалась работа печени, почек, миокарда, что приводило к изменениям биохимического состава крови и мочи и изменениям во внутренних органов у животных опытной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние климатогеографических факторов Арктики на здоровье человека: метаболические и патофизиологические аспекты / С.Н. Нагорнев, И.П. Бобровницкий, С.М. Юдин и др. // Russian Journal of Rehabilitation Medicine. - 2019. - № 2. - С. 4-30.

2. Соколова Ф.Х. Этнодемографические процессы в Российской Арктике // Арктика и Север. - 2015. - № 21. DOI: 10.17238/issn2221-2698.2015.21.151.

3. Влияние климатогеографичеких факторов Ямало-Ненецкого автономного округа на здоровье населения (обзор) / В.И. Корчин, Т.Я. Корчина, Е.М. Терникова и др. // Журнал медико-биологических исследований. – 2021. - № 9(1). – С. 77-88. DOI: 10.37482/2687-1491-Z046

4. Балынина Е.С. Применение метода «открытого поля» в токсикологическом эксперименте // Гигиена труда и профессиональные заболевания. -1978. - №11. - С. 56.

5. МР 2166-80 Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсилогических исследованиях для целей гигиенического нормирования. - URL: https://docs.cntd.ru/document/675400370?ysclid=lrybj0s1v3585232780 (дата обращения: 29.01.2024).

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ОБЕСПЕЧЕНИЮ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В УСЛОВИЯХ НЕГАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧНЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ

М.О. Старчикова, С.В. Клейн, Т.В. Нурисламова, Т.Д. Карнажицкая

Ключевые слова: обеспечение химической безопасности, полициклические ароматические углеводороды, мониторинговые исследования, воздух, биологические среды, лабораторные показатели крови, высокоэффективная жидкостная хроматография

В соответствии с Указом Президента Российской Федерации от 11.03.2019 г. № 97[1] одной из основных задач государственной политики в области **химической и биологической безопасности** является разработка современных методов индикации стойких органических загрязняющих веществ в окружающей среде и биологических средах, организация и проведение мониторинга биологических и химических угроз. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), являясь стойкими органическими загрязнителями окружающей среды и экзогенными ксенобиотиками, оказывают множественное негативное воздействие на здоровье экспонированного населения [1, 2]. К основным источникам поступления ПАУ в объекты среды обитания человека относятся автотранспорт, предприятия по добыче и переработке нефти, металлургические производства, объекты теплоэнергетики, асфальтобетонная промышленность и др. [3–6]. На сегодняшний день в зарубежной научно-технической литературе имеются данные по определению полициклических ароматических углеводородов в крови человека, а также данные по влиянию этих соединений на организм. Результаты исследований показывают, что ПАУ могут проявлять широкий спектр токсических эффектов, в том числе оказывать мутагенное и генотоксическое действие. Полициклические ароматические углеводороды могут вызывать нарушение работы эндокринной системы, негативно влиять на мочеполовую и сердечно-сосудистую системы, на клетки крови, ЖКТ, репродуктивность [7–12]. В связи с наличием многочисленных источников выделения и присутствием многокомпонентных смесей ПАУ в различных объектах окружающей среды, в пищевой продукции, а также вследствие разнообразия эффектов на здоровье человека **актуальной задачей является организация и проведение мониторинговых исследований** содержания ПАУ в объектах среды обитания и в биологических средах человека. Количество зарубежных и отечественных исследований содержания полициклических ароматических углеводородов и их метилпроизводных в

[1] Указ Президента РФ от 11 марта 2019 г. N 97 "Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу"

биологических средах человека ограничено. В настоящий момент в Российской Федерации разработаны нормативы содержания в атмосферном воздухе для пяти из шести изучаемых в рамках данного исследования ПАУ и их метилпроизводных, референтные концентрации этих соединений в биологических средах отсутствуют. **Целью настоящего исследования** является разработка системного подхода к обеспечению химической безопасности в условиях негативного воздействия токсичных полициклических ароматических углеводородов на здоровье населения.

Материалы и методы. Разработка методик анализа ПАУ (бенз(а)пирен, пирен, нафталин, 2-метилнафталин, антрацен, 9-метилантрацен) в атмосферном воздухе и биологических средах (кровь) проводилась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Shimadzu с флуориметрическим детектором. Отработку способа подготовки проб атмосферного воздуха и крови к химическому анализу проводили с помощью подбора оптимального способа извлечения из матрицы различными методами (жидкостная экстракция, твердофазная экстракция, дисперсионная твердофазная экстракция по методу QuEChERS), выбора растворителя в качестве экстрагента (ацетонитрил, гексан, метанол) и типов фильтров (АФА-ВП, АФА-ХП, кварцевые) для отбора проб воздуха. **Объектами** скрининговых исследований являлись пробы *атмосферного воздуха* (n=80) *и образцы крови детского населения* (n=200) территорий с антропогенной нагрузкой (горнодобывающая, нефтеперерабатывающая, металлургическая промышленность) (территории наблюдения) и пробы *атмосферного воздуха* (n=40) *и образцы крови детского населения* (n=100) условно чистой территории, на которой отсутствуют крупные промышленные предприятия (территория сравнения). Биомедицинские исследования выполнены в соответствии с обязательным соблюдением этических принципов медико-биологических исследований, изложенных в Хельсинкской Декларации 1975 года с дополнениями 1983 года и национальным стандартом РФ ГОСТ Р 52379–2005. От каждого законного представителя ребенка, включенного в выборку, получено письменное информированное согласие на добровольное участие в биомедицинском исследовании. В процессе исследований изучены 10 лабораторных показателей крови детского населения (аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), гемоглобин, железо, лейкоциты, лимфоциты, общий белок, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), тромбоциты, эритроциты), которые по данным научной литературы являются чувствительными к неблагоприятному влиянию ПАУ в условиях экспозиции. Для установления вероятных эффектов воздействия ПАУ на состояние здоровья детского населения строили модели зависимости уровня лабораторных показателей крови детей от содержания бенз(а)пирена, нафталина, пирена, 2-метилнафталина, антрацена, 9-метилантрацена в крови детей. Для построения моделей применяли метод линейной регрессии. Статистическую обработку полученных данных

проводили с применением программ Microsoft Office Excel 2010 и пакета прикладных программ Statistica 9.0. Различия между группами считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Технология разработки высокочувствительных методик определения полициклических ароматических углеводородов в атмосферном воздухе и в крови включала идентификацию каждого исследуемого соединения и разделение их смеси на хроматографической колонке, изучение эффективности извлечения ПАУ из проб воздуха и крови, проведение расчета метрологических показателей по полученным экспериментальным данным.

Разработка методики определения ПАУ в атмосферном воздухе включала выбор оптимальных условий пробоподготовки и изучения полноты извлечения ПАУ из образца способом «задано-получено», отработки эффективных приемов и методов отбора проб атмосферного воздуха, установления метрологических характеристик. На первом этапе исследования в результате процедуры подбора оптимальных хроматографических условий для разделения шести ПАУ на колонке с обращенной фазой С18 (Eclipse XDB 4,6*150 мм, 5 мкм) выбран состав подвижной фазы – смесь ацетонитрила с дистиллированной водой в соотношении 80:20 (объемные доли) со коростью подачи 0,8 $см^3$/мин. Оптимальное детектирование каждого изучаемого соединения достигнуто при программировании длин волн флуориметриеского детектора: 4,9 мин: λ Ex = 270 нм, λ Em = 335 нм; 6,0 мин: λ Ex = 249 нм, λ Em = 402 нм; 7,4–8,5 мин: λ Ex = 245 нм, λ Em = 390 нм; 9,5 мин: λ Ex = 265 нм, λ Em = 412 нм. Следующим этапом являлась отработка эффективного извлечения ПАУ с фильтра. Для проведения жидкостной экстракции были изучены фильтры АФА-ВП, АФА-ХП, кварцевые и к ним растворители ацетонитрил и гексан. В результате экспериментов высокая степень извлечения изучаемых ПАУ была достигнута с кварцевых фильтров экстракцией 10 $см^3$ ацетонитрила в течение 15-16 часов, которая составила от 90 % до 100 %. Следующим этапом являлась отработка условий отбора и эффективного извлечения ПАУ с фильтров АФА-ВП, АФА-ХП, кварцевых фильтров. Для проведения жидкостной экстракции были исследованы в качестве растворителей-экстрагентов ацетонитрил и гексан. В результате экспериментов высокая степень извлечения изучаемых ПАУ была достигнута с кварцевых фильтров экстракцией 10 $см^3$ ацетонитрила в течение 15-16 часов, которая составила от 90 % до 100 %. С целью изучения загрязнения кварцевых фильтров изучаемыми соединениями анализировали содержание ПАУ на фильтрах, не подверженных обработке, и с термообработкой. Термообработку фильтров проводили выдерживанием при температуре 450–470 °С в течение от 2 до 10 часов. После охлаждения фильтров проводили экстракцию, добавляя 10 $см^3$ ацетонитрила, выдерживали в течение 15-16 часов. Полученный экстракт анализировали на жидкостном хроматографе. В результате анализа необработанных фильтров было установлено присутствие на них пирена и нафталина. При термической обработке

более 4 часов наличие ПАУ на кварцевых фильтрах не обнаружено. Таким образом, в результате серии экспериментальных исследований подобрано оптимальное время термостатирования фильтров из кварцевого микроволокна при температуре 450 °С в течение 4 ч. На основании результатов экспериментальных исследований, проведенных способом «задано-получено», рассчитаны метрологические показатели методики определения концентраций ПАУ в атмосферном воздухе методом ВЭЖХ/ФЛД в соответствии с нормативным документом РМГ 61-2010.

Разработка методики определения ПАУ в крови включала: экспериментальные работы по отработке условий и параметров хроматографического анализа, подготовке образцов крови к анализу методом ВЭЖХ, установлению метрологических характеристик методики выполнения измерений. В ходе подбора условий детектирования ПАУ установлены оптимальные длины волн флуориметрического детектора в градиентном режиме длин волн возбуждения и эмиссии: для нафталина и 2-метилнафталина 270 нм, 335 нм; 9-метилантрацена и пирена – 238 нм, 390 нм; антрацена – 249 нм, 402 нм; бенз(а)пирена – 264 нм, 412 нм соответственно. В результате серии экспериментальных исследований по разработке методики отработаны оптимальные условия хроматографического разделения шести ПАУ на хроматографической колонке С18 (ZORBAX Eclipse PAH 4,6·50 мм, 3,5 мкм) с использованием в качестве элюирующей смеси ацетонитрила и дистиллированной воды в объемном соотношении 80:20 и скорости элюирования 0,4 $см^3$/мин. Эксперименты по процедуре извлечения исследуемых соединений из крови различными методами показали наиболее высокую степень их извлечения методом жидкостной экстракции с использованием в качестве экстрагента ацетонитрила в присутствии высаливателя хлористого натрия с предварительным подщелачиванием пробы крови гидроксидом натрия. Степень извлечения ПАУ из крови составила от 78 % до 100 %. На основании полученных результатов рассчитаны метрологические показатели методики измерения концентраций ПАУ в крови методом ВЭЖХ/ФЛД в соответствии с нормативным документом РМГ 61-2010, которые не превышали табличных значений. Достоверность результатов экспериментальных исследований по определению метрологических характеристик разработанных методик подтверждена критериями Кохрена, Граббса и Стьюдента, рассчитанные значения которых не превышают критических (табличных) значений, что свидетельствует о приемлемости результатов, полученных в ходе экспериментальных исследований.

Оценку состояния загрязнения атмосферного воздуха проводили при сравнении результатов анализа концентраций ПАУ в атмосферном воздухе изучаемых территорий между собой и с гигиеническими нормативами. В результате проведенных исследований с использованием разработанной методики определения ПАУ в атмосферном воздухе территорий наблюдения и сравнения определены среднесуточные и разовые концентрации бенз(а)пирена,

пирена, нафталина, 2-метилнафталина, антрацена, 9-метилантрацена. Хроматограммы анализа среднесуточных проб атмосферного воздуха территории наблюдения и сравнения представлены на рисунке 1.

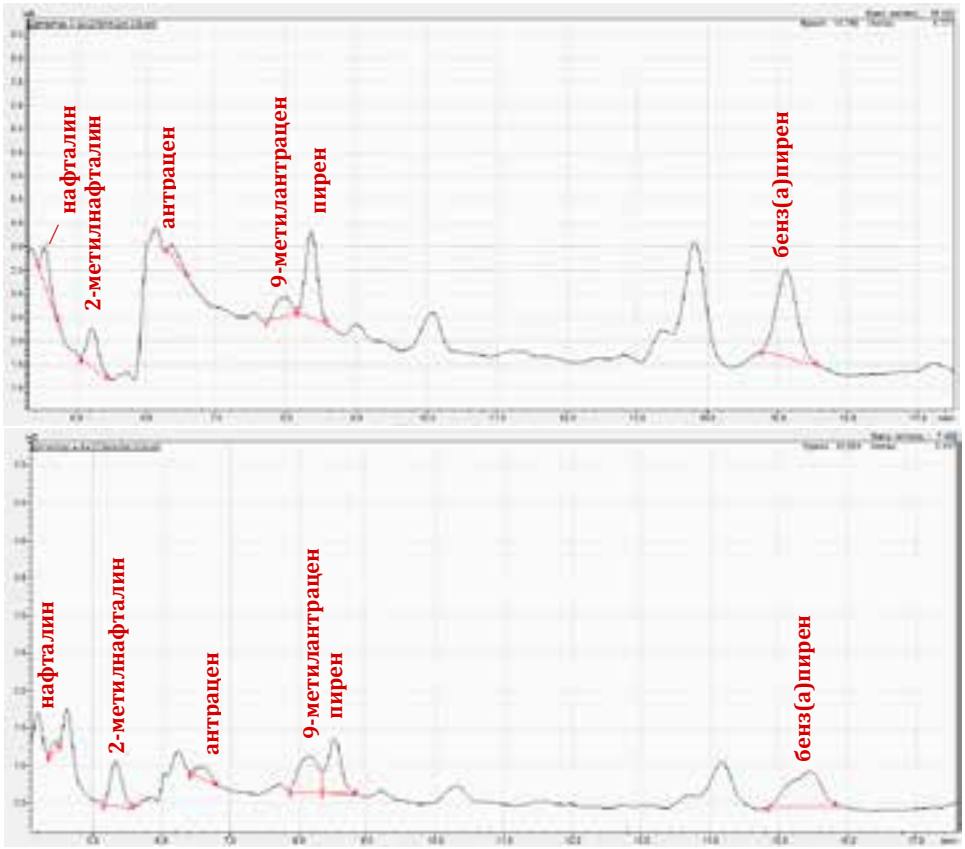


Рисунок 1. Хроматограммы анализа среднесуточных проб атмосферного воздуха территории наблюдения (а), территории сравнения (б)

Наибольшие усредненные значения среднесуточных концентраций ПАУ в атмосферном воздухе обнаружены для пирена и бенз(а)пирена – (0,00021±0,00005) мкг/м^3 на территориях наблюдения и бенз(а)пирена (0,00012±0,00003) мкг/м^3 на территории сравнения. Установлены статистически значимые различия ($p<0,05$) по среднесуточным и максимальным разовым концентрациям бенз(а)пирена, нафталина, 2-метилнафталина, пирена в атмосферном воздухе на территориях наблюдения и сравнения. Достоверно более высокие значения среднесуточных концентраций в атмосферном воздухе установлены на территории наблюдения для пирена в 3,0 раза, бенз(а)пирена – 1,8, нафталина – 1,6, 2-метилнафталина – 1,9 по отношению к территории сравнения. Максимальные разовые концентрации в атмосферном воздухе, отобранные на территориях наблюдения и сравнения, получены для пирена – (0,00042±0,00011) мкг/м^3 (территория наблюдения) и бенз(а)пирена (0,00015±0,00004) мкг/м^3 (территория сравнения). Кратность превышения значений максимальных разовых концентраций в атмосферном воздухе на территории наблюдения по отношению к территории сравнения составила для пирена 3,5 раза,

бенз(а)пирена – 2,5, нафталина – 10,0, 2-метилнафталина – 3,4, 9-метилантрацена – 1,2. В таблице 1 представлены средние арифметические значения среднесуточных и максимальные значения разовых концентраций ПАУ в атмосферном воздухе, отобранных на территориях наблюдения и сравнения.

Таблица 1. Средние арифметические значения среднесуточных и максимальных разовых концентраций ПАУ в атмосферном воздухе территорий наблюдения и сравнения

Наименование ПАУ	Территории наблюдения	Территории сравнения	p*
Средние арифметические значения среднесуточных концентраций (C± Δ), мкг/м^3			
Нафталин	0,00016±0,00004	<НПО*	p<0,05
2-Метилнафталин	0,00019±0,00005	<НПО*	p<0,05
Антрацен	<НПО**	<НПО**	-
9-Метилантрацен	<НПО**	<НПО**	-
Пирен	0,00021±0,00005	0,00007±0,00002	p<0,05
Бенз(а)пирен	0,00021±0,00005	0,00012±0,00003	p<0,05
Максимальные значения разовых концентраций (C± Δ), мкг/м^3			
Нафталин	0,00030±0,00009	0,00003±0,00004	p<0,05
2-Метилнафталин	0,00037±0,00009	0,00011±0,00003	p<0,05
Антрацен	<НПО**	<НПО**	-
9-Метилантрацен	0,00008±0,00002	<НПО**	p<0,05
Пирен	0,00042±0,00011	0,00012±0,00003	p<0,05
Бенз(а)пирен	0,00037±0,00009	0,00015±0,00004	p<0,05
Примечание: * p – статистически значимое различие среднесуточных и разовых концентраций между территориями наблюдения и территорией сравнения; НПО (нижний предел определения) в атмосферном воздухе * нафталина, 2-метилнафталина – 0,0001 мкг/м^3, **антрацена, 9-метилантрацена – 0,00007 мкг/м^3.			

Обнаруженные концентрации ПАУ в атмосферном воздухе сравнивали с гигиеническими нормативами, регламентированные в СанПиН 1.2.3685 - 21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». Превышений гигиенических нормативов содержания нафталина (ПДК м.р. – 0,007 мг/дм^3), бенз(а)пирена (ПДК с.с. – $1 \cdot 10^{-6}$ мг/дм^3), 2-метилнафталина (ОБУВ – 0,02 мг/дм^3), антрацена (ОБУВ – 0,01 мг/дм^3) в атмосферном воздухе не установлено. На остальные исследуемые ПАУ гигиенические нормативы не установлены. Для более полной оценки потенциального риска воздействия полициклических ароматических углеводородов на здоровье населения необходимы исследования по разработке гигиенических нормативов содержания этих стойких ароматических загрязнителей в атмосферном воздухе.

В результате проведенных углубленных скрининговых обследований детей, подвергающихся длительной аэрогенной экспозиции полициклическими ароматическими углеводородами (группа наблюдения), и детей вне зоны экспозиции (группа сравнения) установлено присутствие нафталина в образцах крови у 78 % детей в диапазоне концентраций 0,00010–0,00402 мкг/см^3, 2-метилнафталин определен в 95 % проб в диапазоне 0,00021–0,00401

мкг/см^3. Антрацен определен в 45 % проб в диапазоне 0,00001–0,00009 мкг/см^3, 9-метилантрацен в 50 % проб в диапазоне 0,00002–0,00096. Пирен был преобладающим соединением и обнаруживался чаще других ПАУ (97 % проб) в диапазоне 0,00003–0,00550 мкг/см^3. Бенз(а)пирен обнаружен в 7 % образцов крови в диапазоне 0,00001–0,00003 мкг/см^3 (таблица 2).

Таблица 2. Средние групповые концентрации, диапазоны обнаруженных концентраций ПАУ в крови детей групп наблюдения и сравнения

Наименование ПАУ	**Показатель**	**Группа наблюдения (M±m), мкг/см^3**	**Группа сравнения (M±m), мкг/см^3**	**p***
Нафталин	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00025±0,00006	<НПО*	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00010–0,00402	<НПО*	-
2-Метилнафталин	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00075±0,00011	<НПО**	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00021–0,00401	<НПО**	-
Антрацен	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00003±0,00001	0,000010 ± 0,000008	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00001–0,00009	0,00001–0,00002	-
9-Метилантрацен	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00019±0,00002	0,000039±0,000003	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00002–0,00096	0,00003-0,00007	-
Пирен	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00134 ± 0,00023	0,00014 ± 0,00002	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00003–0,00550	0,00004–0,00030	-
Бенз(а)пирен	Среднегрупповая концентрация в крови	0,00002 ± 0,00001	<НПО***	p<0,05
	Диапазон обнаруженных концентраций	0,00001–0,00003	<НПО***	-

Примечание: *p – статистически значимое различие усредненных значений среднесуточных и максимальных разовых концентраций территорий наблюдения с территорией сравнения; НПО (нижний предел определения) в крови *нафталина – 0,0001 мкг/м^3, **2-метилнафталина – 0,00005 мкг/м^3, ***бенз(а)пирена – 0,000005 мкг/м^3.

Установлено достоверно более высокое среднегрупповое содержание полициклических ароматических углеводородов в крови детей территорий наблюдения, в отличие от детей группы сравнения. Достоверно более высокие значения концентраций ПАУ в крови детей (p<0,05) установлены на территории наблюдения для нафталина – 2,5 раза, 2-метилнафталина в 15,0, антрацена – 3,0, 9-метилантрацена – 4,9, пирена – в 9,6, бенз(а)пирена – 4 по отношению к территории сравнения. Хроматограммы анализа образцов крови ребенка группы наблюдения и сравнения представлены на рисунке 2.

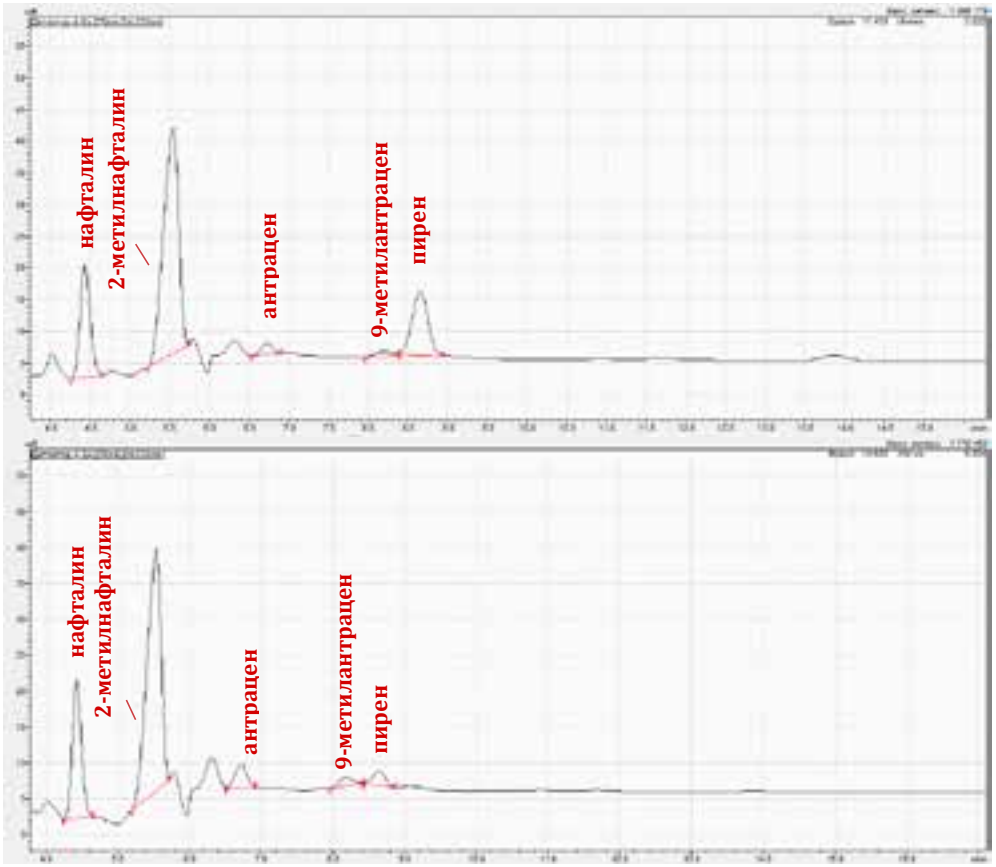


Рисунок 2. Хроматограммы анализа образцов крови ребенка группы наблюдения (а) и сравнения (б)

На основе анализа ПАУ в крови детей (территории сравнения + территория наблюдения) строили модели зависимости «концентрация ПАУ в крови – значение лабораторного показателя крови». Получены достоверно значимые зависимости повышения содержания аланинаминотрансферазы (АЛТ) от увеличения содержания пирена ($y=4303,2x+10,801$; $R^2=0,72$) и антрацена в крови ($y=232908x+10,542$; $R^2=0,50$); зависимости повышения содержания в крови аспартатаминотрансферазы (АСТ) от увеличения концентрации в крови антрацена ($y=227615x+12,689$; $R^2=0,43$), 9-метилантрацена ($y=57870x+13,626$; $R^2=0,45$) и пирена ($y=1918x+22,84$; $R^2=0,25$); понижения уровня гемоглобина с увеличением в крови концентрации антрацена ($y=-154047x+140,26$; $R^2=0,11$) и пирена ($y=-2316,9x+138,1$; $R^2=0,10$); понижения количества лейкоцитов в крови от повышения содержания 2-метилнафталина ($y=-1143x+7,6171$; $R^2=0,13$), антрацена ($y=-23552x+7,30$; $R^2=0,11$) и пирена ($y=-452,43x+7,09$; $R^2=0,31$); повышения уровня общего белка крови с увеличением содержания в крови антрацена ($y=82707x+66,94$; $R^2=0,17$) и пирена ($y=1289,4x+67,763$; $R^2=0,22$). Примеры полученных моделей зависимостей представлены на рисунке 3.

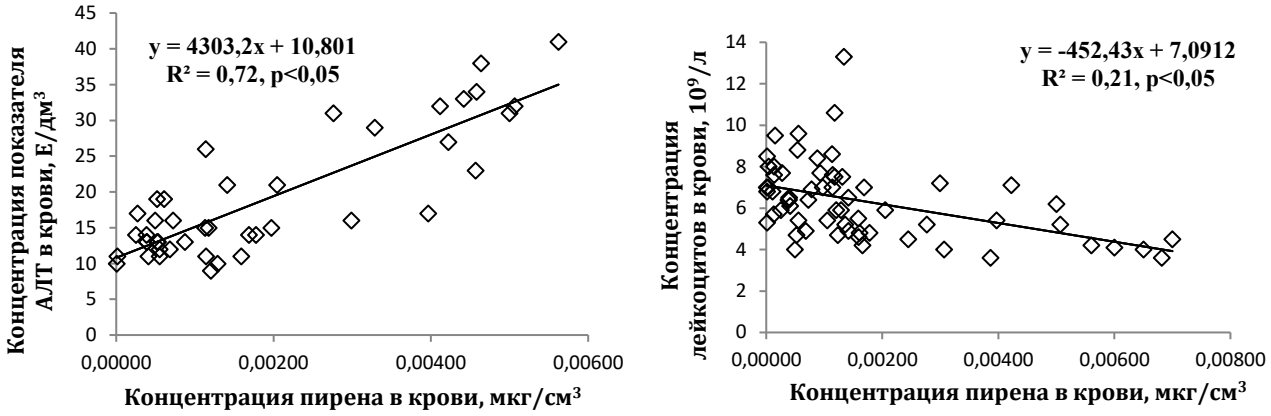


Рисунок 3. Модели зависимостей концентрации АЛТ (а) и лейкоцитов (б) в крови от концентрации пирена в крови

Построенные модели зависимости «ПАУ в крови – лабораторный показатель крови» отражают возможное негативное воздействие каждого ПАУ на изменение важных показателей крови, которые в дальнейшем могут быть уточнены в углубленных направленных исследованиях по изучению негативного воздействия анализируемых химических факторов на здоровье экспонированного населения.

Выводы. Разработаны высокочувствительные и селективные методики измерения концентраций полициклических ароматических углеводородов и их метилпроизводных (нафталин, антрацен, пирен, бенз(а)пирен, 2-метилнафталин, 9-метилантрацен) в атмосферном воздухе и крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с флуориметрическим детектированием. Нижний предел измерений концентрации нафталина, 2-метилнафталина в атмосферном воздухе разработанной методики составил 0,0001 мкг/м^3, антрацена, 9-метилантрацена, пирена – 0,00007 мкг/м^3, бенз(а)пирена – 0,00004 мкг/м^3 при отборе пробы объемом 3 м^3. Нижний предел концентраций нафталина в крови разработанной методики составил 0,0001 мкг/см^3, 2-метилнафталина – 0,00005 мкг/см^3, антрацена, 9-метилантрацена – 0,000005 мкг/см^3, пирена – 0,000025 мкг/см^3, бенз(а)пирена – 0,000005 мкг/см^3. Разработанные авторские методики позволяют существенно расширить аналитические возможности, результативность и эффективность мониторинговых исследований качества атмосферного воздуха, являясь облигатной составной частью реализуемого системного подхода к обеспечению химической безопасности. Кроме того, разработанные подходы позволяют повысить достоверность оценок при формировании доказательной базы причинения вреда здоровью в условиях многофакторных и многосредовых воздействий и могут быть использованы в системе информационно-аналитического обеспечения управления рисками здоровью населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Imam A. Biological machinery for polycyclic aromatic hydrocarbons degradation: A review // Bioresource Technology. – 2022. – Vol. 343. – P. 126121.

2. Manousi N., Zachariadis G. A. Recent advances in the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental samples // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – No. 9. – P. 2182.

3. Mojiri, A., Zhou, J. L., Ohashi, A., Ozaki, N., and Kindaichi, T. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments // Science of the total environment. – 2019. – Vol. 696. – P. 133971.

4. Никифорова Е.М., Кошелева Н.Е. Полициклические ароматические углеводороды в дорожном покрытии и экраноземах восточного округа Москвы // Вестник ПНИПУ. Прикладная экология. Урбанистика. – 2020. – № 2. – С. 94–117.

5. Коряков А. Е., Шишкина А. А., Шишкина П. А. Воздействие предприятий металлургической промышленности на почву и пути его снижения // Известия Тульского государственного университета. Технические науки. – 2019. – №. 9. – С. 371–375.

6. Жилкина В.Ю., Еремин В.А. Информационно-аналитическое изучение табака для сигарет и кальянов, а также анализ сорбентов табачного дыма (обзорная статья) // Вопросы устойчивого развития общества. – 2021. – № 6. – С. 922–930.

7. Naphthalene. EPA. – URL:https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/naphthalene.pdf (дата обращения: 2024-01-26).

8. Toxicological review of 2-methylnaphthalene. EPA– URL:https://iris.epa.gov/static/pdfs/1006tr.pdf (дата обращения: 2024-01-26).

9. Anthracene. New Jersey Department oh health and Senior Servicew. – URL:https://www.nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/0139.pdf (дата обращения: 2024-01-26).

10. EPA. 9-Methylanthracen. – URL:https://sor.epa.gov/sor_internet/registry/substreg/searchandretrieve/substancesearch/search.do?details=displayDetails&selectedSubstanceId=44120 (дата обращения: 2024-01-26).

11. Toxicity Profiles. Condensed Toxicity Summary for PYRENE. – URL:https://rais.ornl.gov/tox/profiles/pyrene_c_V1.html (дата обращения: 2024-01-26).

12. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) // US Environmental Protection Agency. – 2008. – URL: https://archive.epa.gov/epawaste/hazard/wastemin/web/pdf/pahs.pdf (дата обращения: 26.01.2024).

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОСВЯЗИ ЗДОРОВЬЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ И ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ВЫГОРАНИЯ

П.С. Твилле (Polina S. Tuillet)

Институт лидерства и управления здравоохранением ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Актуальность. Практическая работа в системе здравоохранения в постоянном контакте с пациентами и высочайшим уровнем ответственности предъявляет высокие требования к медицинским специалистам не только с точки зрения глубоких и актуальных знаний, но и эмпатии и эмоциональной вовлеченности в проблемы пациентов. Однако далеко не каждый специалист способен выдержать подобное ежедневное давление, в связи с чем всё больше медицинских работников становятся подвержены синдрому профессионального (эмоционального) выгорания. Профессиональное выгорания в медицине и здравоохранении наиболее часто рассматривается как угроза оттока кадров и недостаточной укомплектованности медицинских организаций, что в итоге приводит к снижению качества и доступности медицинской помощи. Однако последствия данного синдрома для самих медицинских работников остаются недостаточно изученными. Проблема заключается в том, что в научной литературе недостаточно внимания уделяется воздействию выгорания на психическое и физическое здоровье медицинских специалистов, несмотря на то, что физические симптомы выгорания, например: проблемы со сном, головные боли, скелетно-мышечная боль, и ухудшение общего состояния здоровья, описаны в литературе [14]. Отдельно стоит отметить, что наличие выгорания ассоциировано со злоупотреблением алкоголем и повышением уровня холестерина в крови [5; 6]. При этом распространенность других факторов риска хронических неинфекционных заболеваний среди медицинских работников также остается на высоком уровне [4]. Помимо отдельных факторов риска, показана взаимосвязь синдрома профессионального выгорания и таких хронических неинфекционных заболеваний как болезни сердечно-сосудистой системы и сахарного диабета 2 типа [7–9]. При этом среди лиц старше 45 лет выгорание повышает риск смерти, в целом, от всех причин [10]. С точки зрения воздействия на психическое здоровья, выгорание также наносит существенный вред. Одним из самых тяжелых последствий выгорания является повышенный риск суицидальных попыток и суицидов среди медицинских работников [12; 13]. Осложняет ситуацию и то, что медицинские работники реже

обращаются за медицинской помощью, считая, что могут позаботиться о своем здоровье самостоятельно, или опасаясь за собственную профессиональную репутацию [3; 11].

Таким образом, необходимо более детально исследовать взаимосвязь выгорания и состояния здоровья медицинских работников с использованием междисциплинарного подхода организации здравоохранения и общественного здоровья и медицинской психологии через эпидемиологические исследования распространенности хронических неинфекционных заболеваний и их факторов риска и валидированных опросников для диагностики выгорания. Определение взаимного влияния выгорания и состояния здоровья позволит обосновать эффективность стратегии профилактики выгорания медицинских работников и борьбы с его последствиями через укрепление здоровья.

Материалы и методы. Исследование носило одномоментный характер и было проведено в форме электронного опроса в сентябре 2023 года при поддержке Министерства здравоохранения Нижегородской области. Всего в исследовании приняли участие 25 070 респондентов или 70,9% от общей численности медицинских работников государственного сектора здравоохранения из 148 медицинских организаций Нижегородской области. Для обеспечения безопасности персональных данных для проведения опроса разработана цифровая платформа с соблюдением требований законодательства Российской Федерации в отношении сбора, хранения и передачи персональных данных. Цифровая платформа для анкетирования размещена на Yandex Cloud, который соответствует требованиям международных и национальных стандартов ISO, GDPR, PCI DSS, ГОСТ Р 57580 и непосредственно Федерального закона «О персональных данных» от 27.07.2006 N 152-ФЗ на высшем уровне защищенности, и имеет подтверждающий аттестат безопасности. При прохождении опроса была предусмотрена идентификация респондентов с присвоением каждому из участников индивидуального ID через смс-регистрацию. Благодаря использованию электронной платформы для анкетирования удалось добиться высокого охвата и отклика респондентов. Для проведения исследования разработана анкета с целью изучения проблемы профессионального выгорания и определяющих его факторов. Для диагностики синдрома профессионального выгорания использована адаптированная на русский язык анкета Maslach Burnout Inventory (MBI) в версии для медицинских работников и управленческих кадров, так как в данном исследовании принимали участие в том числе руководители медицинских организаций и их заместители [2]. Среди респондентов 20,7% (5198 человек) составили врачи, 72,3% (18132 человека) – средний медицинский персонал, 6,9% (1740 человек) – управленческие кадры медицинских организаций.

Исследование выполнено в рамках программы «Забота о медиках» благотворительного фонда помощи медицинским работникам «ВБлагодарность» [1].

Результаты. Все участники опроса, 25 070 медицинских работников, полноценно прошли диагностику синдрома профессионального выгорания с помощью опросника MBI. Среди всех медицинских работников у 6400 (25,5%) диагностирована низкая степень выгорания, у 6960 (27,8%) – средняя степень, 6727 (26,8%) имели высокую степень выгорания и 4983 (19,9%) крайне высокую степень выгорания на момент исследования. В данном исследовании, синдром профессионального выгорания считался диагностированным, если респондент показывал результат по MBI «выгорание высокой степени» или «выгорание крайне высокой степени». Таким образом, синдром профессионального выгорания диагностирован у **11 710** или **46,7%** медицинских работников Нижегородской области (рисунок 1).

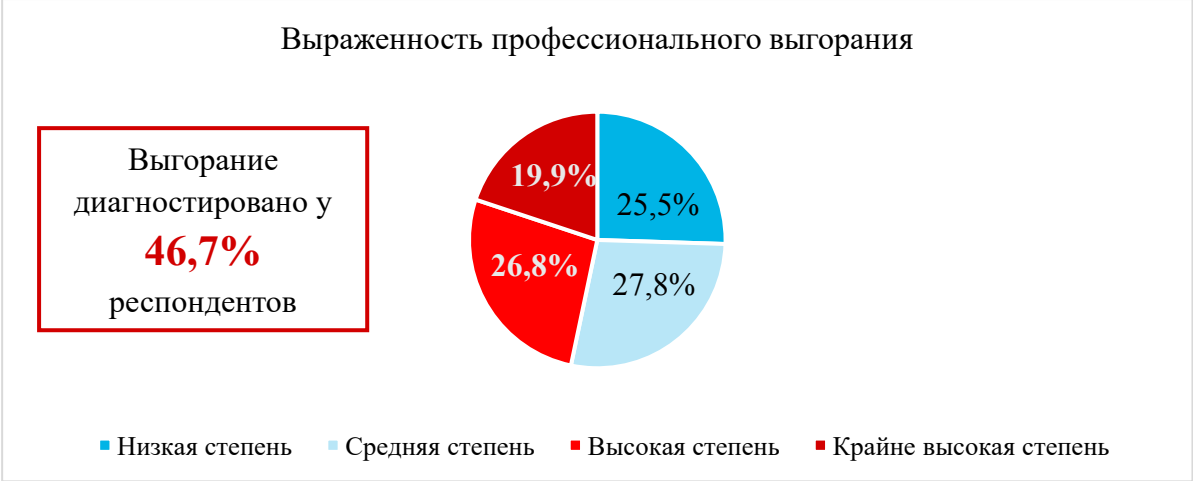


Рисунок 1. Распределение степеней выраженности выгорания по опроснику MBI среди респондентов

Согласно трехфакторной модели, синдром профессионального выгорания характеризуется следующими симптомами: эмоциональное истощение, деперсонализация (цинизм) и редукция личностных достижений (снижение профессиональной самооценки). Среди медицинских работников региона симптом эмоционального истощения высокой и крайне высокой степени выраженности зарегистрирован у 9524 респондентов (38%). Эмоциональное истощение проявляется в недостаточности эмоциональных и психологических ресурсов, потере стрессоустойчивости и невозможности справиться со связанным с работой стрессом. Считается, что эмоциональное истощение в большинстве случаев предшествует развитию деперсонализации и редукции

личностных достижений. Деперсонализация высокой и крайне высокой степени выраженности диагностирована у 9577 (38,2%) опрошенных. Деперсонализация (цинизм) – это обезличивание окружающих, в том числе пациентов, которое проявляется в игнорировании их чувств и пренебрежении ими. Третий симптом, редукция личностных достижений, диагностирован на уровне высокой и крайне высокой выраженности у 4664 (18,6%) респондентов. Редукция личностных достижений характеризуется ощущением профессиональной неэффективности, а также обесцениванием результатов своей трудовой деятельности.

При проведении анкетирования респондентам предложено оценить состояние собственного здоровья, а также ответить на вопросы о наличии вредных привычек. Среди опрошенных большинство, 13 198 (52,6%), оценили состояние своего здоровья как «удовлетворительное», еще 8630 (34,4%) оценили свое здоровье как «хорошее», только 1405 (5,6%) определили самооценку своего здоровья как «отличное». При этом 916 (3,7%) респондентов оценили свое здоровье как «плохое», еще 74 опрошенных (0,3%) как «очень плохое».

В исследовании обнаружена высокая распространенность вредных привычек среди медицинских работников. Согласно полученным данным, 12 263 респондента (48,9%) не соблюдают принципы сбалансированного питания. Доля лиц, употреблявших алкогольные напитки за последние 30 дней, составила 31,5% (7898 респондентов), курящих - 13,1% (3280 человек). Отмечается также высокий уровень распространенности бессонницы и других хронических нарушений сна, которые затронули более половины опрошенных - 51,1% (12 807 человек). Данные паттерны нездорового поведения являются основными факторами риска развития хронических неинфекционных заболеваний: заболеваний сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета 2 типа, онкологических заболеваний, хронических респираторных заболеваний, а также проблем психического здоровья. На момент проведения исследования большая часть респондентов, 60,2% (15 090 человек), уже имели по крайней мере одно диагностированное хроническое заболевание (рисунок 2).

Рисунок 2. Распространенность факторов риска хронических неинфекционных заболеваний среди респондентов по данным опроса

Отдельной проблемой является то, что сами медицинские работники не уделяют своему здоровью должного внимания. Среди респондентов только 59,4% (14 901 человек) отметили, что полноценно проходят диспансеризацию, чтобы следить за состоянием своего здоровья. Остальные участники либо проходят медицинские осмотры формально для получения доступа к работе – так ответили 9402 респондента (37,5%), либо вовсе игнорируют диспансеризацию – 767 (3,1%). Важно отметить, что при ответе на вопрос о прохождении медицинских осмотров для допуска к профессиональной деятельности, 98% опрошенных подтвердили, что проходит данные осмотры. При этом сами же респонденты не считают их адекватными и полноценными для оценки состояния своего здоровья, что может объясняться формальным отношением медицинских работников к данной процедуре.

Таким образом, требуется разработка обязательных мероприятий по привлечению медицинских работников к качественной диспансеризации, в том числе во время рабочего дня, и по возможности с привлечением независимых медицинских бригад. Привлечение внешних медицинских бригад целесообразно для обеспечения конфиденциальности медицинской информации и объективности проводимых медицинских осмотров и исследований. Внешний контроль и участие специалистов, не связанных прямыми трудовыми отношениями с медицинской организацией, в которой работают обследуемые, позволяет повысить качество и точность

диагностических процедур. Такой подход способствует созданию условий, исключающих возможность влияния корпоративной солидарности на результаты диагностики, и обеспечивает выполнение принципов медицинской этики и сохранения медицинской тайны.

Взаимосвязь профессионального выгорания и состояния здоровья респондентов

Как было отмечено выше, среди медицинских работников, участвующих в опросе, распространены основные факторы риска хронических неинфекционных заболеваний. Для анализа их взаимосвязи с синдромом профессионального выгорания произведен расчет отношения шансов (ОШ) и получены следующие результаты:

- курение ассоциировано с увеличением шансов наличия выгорания почти в 1,5 раза (ОШ = 1,4 (95% ДИ: 1,3—1,5; p<0,001));
- употребление алкоголя хотя бы однократно в течение последних 30 дней взаимосвязано с увеличением шансов выгорания в 1,7 раза (ОШ = 1,7 (95% ДИ: 1,6—1,8; p<0,001));
- нерациональное питание увеличивало шансы выгорания в 1,5 раза (ОШ = 1,5 (95% ДИ: 1,4—1,7; p<0,001));
- наибольшую взаимосвязь с выгоранием показали бессонница и другие нарушения сна, которые были ассоциированы с увеличением шансов выгорания в 3,7 раза (ОШ = 3,6 (95% ДИ: 3,6—3,7; p<0,001));
- наличие хронических заболеваний увеличивало шансы выгорания почти в 2 раза (ОШ = 1,9 (95% ДИ: 1,8—2; p<0,001)).

Игнорирование диспансеризации или прохождение диспансеризации формально также негативно влияло на наличие синдрома профессионального выгорания, в группе респондентов, не проходивших полноценную диспансеризацию, синдром выгорания встречался статистически чаще – 61,7% против 36,5% (p<0,001).

Несмотря на подобное отношение к прохождению диспансеризации, при опросе респондентов показано, что все категории медицинских работников опасаются, что из-за работы может ухудшиться состояние их здоровья. Такого мнения придерживаются 59,3% опрошенных врачей, при этом среди тех, кто переживает за свое здоровье, шансы наличия выгорания выше в 5,7 раза (ОШ = 5,7 (95% ДИ: 5,6—5,9; p<0,001)). Среди среднего медицинского персонала доля опасающихся за свое здоровье из-за условий работы равна 51%, шансы наличия выгорания также в 4,5 выше, чем у тех, кто не переживает за свое здоровья (ОШ = 4,5 (95% ДИ: 4,4—4,6; p<0,001)).

Среди управленцев данные показатели равен 52,3% и ОШ = 5,3 (95% ДИ: 5,2—5,4; p<0,001), соответственно.

Заключение. Проведенное исследование подтвердило высокую распространенность факторов риска хронических заболеваний и самих заболеваний среди медицинских работников. Особого внимания заслуживает установленная прямая взаимосвязь между данными факторами и профессиональным выгоранием. Также в ходе опроса выявлена низкая приверженность медицинских работников диспансеризации или формальное отношение к ней, несмотря на то, что сами медицинские работники беспокоятся за ухудшение своего здоровья из-за работы.

Полученные данные обуславливают важность привлечения внимания к здоровью медицинских работников, а также разработки мер, направленных на улучшение качества диспансеризации для медработников и создание благоприятных условий для поддержания и укрепления их здоровья на рабочем месте, включая профилактику профессионального выгорания. Важным аспектом является формирование культуры заботы о собственном здоровье в рамках формирования современной корпоративной культуры в медицинских организациях, что поможет улучшить качество жизни медицинских работников и сохранить их профессиональное долголетие.

Благодарности. Автор выражает благодарность коллективу благотворительного фонда помощи медицинским работникам «ВБлагодарность» в лице директора Фонда, Алексея Сергеевича Безымянного, за инициацию проекта «Забота о медиках», в рамках которой выполнено данное исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Благотворительный фонд «ВБлагодарность» : [Сайт] URL: https://vblagodarnost.ru/.

2. Водопьянова Н. Е. Синдром выгорания. Диагностика и профилактика: практическое пособие / Н. Е. Водопьянова, Е. С. Старченкова. – М. : Юрайт, 2017. – 336 с.

3. Горблянский Ю. Ю. Актуальные вопросы профессиональной заболеваемости медицинских работников / Ю. Ю. Горблянский // Медицина труда и промышленная экология. – 2003. – № 1. – С. 8-12.

4. Распространенность факторов риска хронических неинфекционных заболеваний среди медицинских работников / О. С. Кобякова, Е. С. Куликов, И. А. Деев [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 96-104.

5. Burnout and risk factors for arteriosclerotic disease: follow-up study / K. Kitaoka-Higashiguchi, Y. Morikawa, K. Miura [и др.] // Journal of occupational health. – 2009. – Т. 51. – Burnout and risk factors for arteriosclerotic disease. – № 2. – С. 123-131.

6. Alcohol misuse, health-related behaviors, and burnout among clinical therapists in China during the early Covid-19 pandemic: A Nationwide survey / R. Tao, M. Hsu, K. Min [et al.] // Frontiers in Public Health. – 2023. – Vol. 11. – Alcohol misuse, health-related behaviors, and burnout among clinical therapists in China during the early Covid-19 pandemic. – P. 1084259. doi: 10.3389/fpubh.2023.1084259.

7. Appels A. Burnout as a risk factor for coronary heart disease / A. Appels, E. Schouten // Behavioral Medicine. – 1991. – Vol. 17. – № 2. – P. 53-59. doi:10.1080/08964289.1991.9935158.

8. Burnout and risk of coronary heart disease: a prospective study of 8838 employees / S. Toker, S. Melamed, S. Berliner [et al.] // Psychosomatic Medicine. – 2012. – Vol. 74. – № 8. – P. 840-847. doi:10.1097/PSY.0b013e31826c3174.

9. Burnout and risk of type 2 diabetes: a prospective study of apparently healthy employed persons / S. Melamed, A. Shirom, S. Toker, I. Shapira // Psychosomatic medicine. – 2006. – Vol. 68. – № 6. – P. 863-869. doi:10.1097/01.psy.0000242860.24009.f0.

10. Burnout as a predictor of all-cause mortality among industrial employees: A 10-year prospective register-linkage study / K. Ahola, A. Väänänen, A. Koskinen [et al.] // Journal of psychosomatic research. – 2010. – Vol. 69. – № 1. – P. 51-57. doi: 10.1016/j.jpsychores.2010.01.002.

11. “I would never want to have a mental health diagnosis on my record”: a survey of female physicians on mental health diagnosis, treatment, and reporting / K. J. Gold, L. B. Andrew, E. B. Goldman, T. L. Schwenk // General hospital psychiatry. – 2016. – Vol. 43. – P. 51-57. doi:10.1016/j.genhosppsych.2016.09.004.

12. Kuhn C. M. Self-care as a professional imperative: physician burnout, depression, and suicide / C. M. Kuhn, E. M. Flanagan // Canadian Journal of Anesthesia. – 2017. – Vol. 64. – № 2. – P. 158-168. doi:10.1007/s12630-016-0781-0.

13. Mental illness and suicide among physicians / S. B. Harvey, R. M. Epstein, N. Glozier [et al.] // The Lancet. – 2021. – Vol. 398. – № 10303. – P. 920-930. doi:10.1016/S0140-6736(21)01596-8.

14. Physical, psychological and occupational consequences of job burnout: A systematic review of prospective studies / D. A. J. Salvagioni, F. N. Melanda, A. E. Mesas [et al.] // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – Physical, psychological and occupational consequences of job burnout. – № 10. – P. e0185781.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ БИОУПРАВЛЕНИИ У ПАЦИЕНТОВ С ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

В.П. Телюпина, М.М. Некрасова

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии»

Одна из актуальных проблем современности – продление трудового долголетия и работоспособности трудящихся. В связи с этим важной задачей является поиск современных методов лечения и профилактики профессиональных заболеваний. Во всем мире БОС-терапия (терапия на основе биологической обратной связи – БОС) зарекомендовала себя как безопасный, эффективный и простой в применении функциональный метод, который широко используется в профилактике и лечении заболеваний, восстановительной медицине. Проходя БОС-процедуры, пациент посредством различных технических средств получает информацию о состоянии своего организма и обучается регулировать физиологические показатели в заданном направлении, ориентируясь на воспринимаемые аудио-визуальные образы. Обзор различных видов биоуправления, его механизмов и направлений развития показывает, что такая немедикаментозная терапия с использованием только личных ресурсов (органических, психологических, эмоционально-волевых) приводит к нормализации функционального состояния организма, эффективной саморегуляции физиологических функций [1,2,3].

На базе ФБУН «Нижегородского НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора (ФБУН ННИИГП) БОС-терапия применяется для оценки и коррекции неблагоприятных функциональных состояний организма пациентов с вибрационной болезнью (ВБ) и профессиональными бронхитами (ПБ), которые в структуре профзаболеваний на территории Российской Федерации занимают лидирующие позиции [4]. Для лечения различных форм профпатологии в настоящее время активно применяется БОС-терапия. Так, в ФГБНУ "Восточно-Сибирском институте медико-экологических исследований" был успешно запатентован способ реабилитации с помощью БОС-терапии пациентов с ВБ [5]. Согласно ему осуществлялась тренировка пациента на стабилометрической платформе с использованием БОС по опорной реакции. Были достигнуты улучшения общего состояния, вертикальной устойчивости, эмоционального статуса, сенсорных показателей и качества жизни пациентов. В исследованиях В.С. Рукавишникова и соавт. (2012) показаны возможности успешного применения биоуправления при лечении больных с ВБ [6]. Пациентам проводился курс температурно-миографического тренинга с БОС. В результате был достигнут положительный эффект по данным реовазографии и электронейромиографии. Приобретение навыка произвольного

контроля за температурой кончиков пальцев – эффективный способ расширить сосуды конечностей, повысить периферическое сопротивление и тем самым предотвратить развитие спазма либо снизить его уровень.

В лечении больных с хроническими неинфекционными заболеваниями легких методы с БОС применяли в реабилитации пациентов с бронхиальной астмой, больных с хроническим обструктивным бронхитом с целью снижения бронхообструкции [7]. По сводным данным Российской ассоциации БОС, при лечении бронхолегочных и сердечно-сосудистых заболеваний, вегето-сосудистых расстройств положительный эффект применения БОС наблюдается в 65-90% случаев [8]. Состояние механизмов регуляции физиологических функций и общей активности регуляторных механизмов можно эффективно оценить методом анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) [9]. Кроме того, исследователи отмечают необходимость учитывать влияние неблагоприятных условий труда на состояние нейрогуморальной регуляции [10]. Спектр применения БОС-терапии постоянно расширяется, однако, есть необходимость в разработке методических подходов, одним из которых может служить анализ нейрогуморальной регуляции до и после проведения БОС-процедур для реализации персонифицированного подхода.

Цель работы – оценка нейрогуморальной регуляции по параметрам ВСР у пациентов с профессиональными заболеваниями для разработки персонифицированной программы реабилитации при использовании метода коррекции функционального состояния с биологической обратной связью.

Материалы и методы. Для лонгитюдного исследования в изучаемую группу на основании добровольного информированного согласия были включены пациенты, проходящие динамическое наблюдение и плановое лечение в стационаре клиники ФБУН ННИИГП Роспотребнадзора: 10 человек (9 мужчин, 1 женщина) в возрасте от 42 до 55 лет (48,5 ± 1,25 лет) и средним стажем работы в профессии 25,5 ± 1,11 лет. Из них больные с проявлениями ВБ от воздействия локальной вибрации – 5 человек, больные с ПБ – 5 человек. Профессии обследуемых пациентов: слесари, обрубщики, резчики, литейщики. В целях оценки механизмов регуляции физиологических функций, а также в качестве критериев эффективности коррекции функционального состояния с помощью БОС использовался анализ ВСР. Исходное и итоговое определение вегетативного профиля и функциональных резервов организма проводили с использованием электрокардиографа «ВНС-Ритм» и соответствующего программного обеспечения «Поли-Спектр-Ритм» («Нейрософт», г.Иваново). Исследовали две группы параметров ВСР: временные (SDNN, мс, CV, AMo, %) и частотные (TP, VLF, LF, HF, мс^2/Гц, LF/HF) при 5-минутных записях в покое, в первой половине дня. Рассчитывали индекс напряжения (ИН=AMo/(2ΔX*Mo), усл.ед., индекс вегетативного равновесия (ИВР=AMo/ΔX), усл.ед., показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР=AMo/Mo), усл.ед. [11].

Для коррекции функционального состояния с помощью БОС-терапии использовался аппаратно-программный комплекс «БОС-Реакор» (НПКФ «Медиком МТД», г.Таганрог). Пациенты прошли курс БОС-терапии по индивидуальным программам согласно Руководству пользователя [http://www.reacor.ru/rus/html/sertificates/patent_complex.pdf]. В объем БОС-процедур были включены тренинги по показателям ЧСС (частоты сердечных сокращений), ЭМГ (электромиограммы), ЭЭГ (электроэнцефалограммы), температуры и дыхания. Каждый сеанс с БОС состоял из нескольких основных этапов: адаптация, запись исходного фона, инструкция, задание первого уровня, отдых, инструкция, задание второго уровня, отдых, задание третьего уровня, итоговый фон. Средняя длительность тренинговой процедуры – 20 минут. В течение курса в исследуемой группе было проведено более 20 видов различных БОС-процедур из каталога библиотеки программно-методического обеспечения. В среднем, каждому участнику исследования было проведено 7 сеансов БОС-терапии.

Для каждого пациента выявлялись процедуры с положительным эффектом на состояние нейрогуморальной регуляции, о чем судили по возрастанию ТР при одновременном снижении ИН, и отрицательным эффектом – по отсутствию положительной динамики ТР и ИН. ТР – показатель, отражающий суммарное влияние симпатического и парасимпатического звена вегетативной нервной системы (ВНС) на сердечный ритм. Его значения повышаются при доминировании парасимпатических влияний и уменьшаются при нахождении организма в состоянии стресса. ИН отражает соотношение активности симпатического и парасимпатического отдела ВНС. Данный показатель повышается при напряжении регуляторных систем [11].

Для статистической обработки использовались программы Statistica v.12 и Excel 2010. Вычисляли среднее значение и стандартную ошибку среднего. При использовании t-критерия Стьюдента различия полагали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты. С учетом выявленных индивидуальных реакций были выделены наиболее оптимальные процедуры БОС-терапии, которые вызывали положительный отклик в функциональном состоянии пациента. Согласно анализу значений ТР и ИН до и после каждой отдельной БОС-процедуры положительная динамика наблюдалась чаще всего в случае проведения тренинга «Диафрагмальное дыхание» (табл.1). Пациенту необходимо было дышать животом, оставляя неподвижной грудную клетку, в соответствии с "Задающим графиком", показывающим время начала вдоха и выдоха. Датчики рекурсии дыхания были установлены на животе и груди. Формирование нового стереотипа диафрагмально-релаксационного дыхания способствовало общей релаксации организма. «Альфа-тренинг» по показаниям ЭЭГ оказал положительный эффект более чем у половины участников исследования. Датчик регистрации ЭЭГ устанавливался в окципитальном отведении Oz-A1. Повышение альфа-активности головного мозга было направлено на освоение навыков достижения состояния психической

релаксации. Подобный эффект оказал и тренинг по «Снижению ЧСС». По величине параметров, регистрировавшихся с датчиков ЭКГ, наблюдалось повышение ТР при снижении ИН и целевого показателя – ЧСС. При прохождении «Тренинга по температуре» в 44% случаев был достигнут положительный эффект. Сигнал температуры регистрировался с помощью температурного датчика с дистальной фаланги 3 пальца ведущей руки. Во время сеанса пациенты получали задание максимально расслабить мышцы рук и повысить температуру пальцев, в результате чего было достигнуто состояние общей релаксации.

Таблица 1. БОС-процедуры, оказавшие положительный эффект на нейрогуморальную регуляцию

БОС-процедура	**Положительный эффект,** % случаев
Диафрагмальное дыхание	66,7
Альфа-тренинг	55,6
Снижение ЧСС	55,6
Тренинг по температуре	44,4
Тренинг по ЭМГ	22,2
ЭЭГ-ЭМГ	11,1
Нормализация сна по ЭЭГ	11,1
Увеличение ВСР	11,1
Бета-тренинг	11,1

Анализ эффективности БОС-процедур можно рассмотреть на примере динамики показателей ТР и ИН у Пациента 1 (рис.1). Основное заболевание данного пациента: профессиональный хронический необструктивный бронхит. Сопутствующее заболевание: начальные признаки снижения слуха. В течение 14 дней Пациент 1 прошел курс БОС-терапии, состоящий из 8 последовательных процедур. При этом наблюдалась положительная динамика показателей ВСР. Поскольку значения ТР значительно возросли к концу курса (2851 мс^2 – в начале курса, 3703 мс^2 – в конце курса) можно говорить об увеличении адаптационного потенциала, что является благоприятным признаком. Наблюдался более высокий фоновый уровень напряжения регуляторных механизмов (ИН) по сравнению с понизившимся итоговым уровнем ИН после прохождения 3,4,6,8 процедуры (ИН в начале курса - 88,5 усл.ед.; ИН в конце курса - 69,7 усл.ед.).

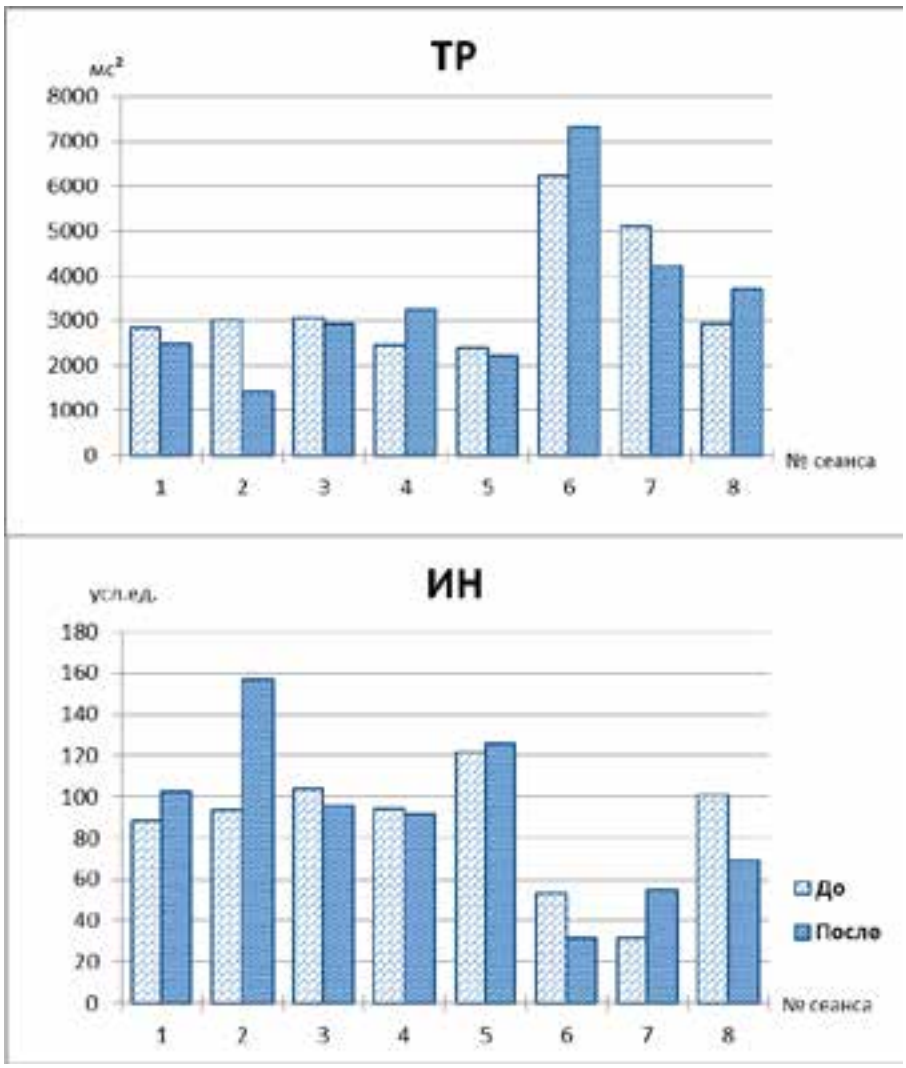


Рисунок 1. Динамика индекса напряжения (ИН) и общей мощности (ТР) у пациента при прохождении курса БОС-терапии с измерением данных показателей до и после каждой процедуры. Процедуры (сеансы): 1- Вводная по ЧСС; 2 – Вводная по ЭМГ (правая рука); 3 – Вводная по ЭМГ (левая рука); 4 – Диафрагмальное дыхание; 5 – Релаксация по температуре; 6 – Тренинг по температуре; 7 – Баланс 2х мышц; 8 – Альфа-тренинг

Резко возросший уровень ИН (с 93,7 усл.ед до 157,0 усл.ед.) вследствие процедуры «Вводная по ЭМГ (правая рука)» объясняется тем, что чередующиеся сокращения и расслабления мышц ведущей руки пациента потребовали более высокого уровня затраты функциональных резервов организма для выполнения данного задания. Колодковый электрод крепился на трапециевидную мышцу плеча. По результатам прохождения БОС-терапии для Пациента 1 в группу с положительным эффектом были выделены процедуры: «Диафрагмальное дыхание, «Тренинг по температуре» и «Альфа-тренинг», что является критерием отбора для включения в персонифицированный БОС-протокол.

Статистический анализ показал, что при прохождении данных процедур в группе с положительным эффектом повышение TP и снижение ИН произошло за счет гуморально-метаболических влияний (увеличение VLF) и центрального звена регуляции (превалирование LF, увеличение значений AMo, CV) (табл. 2). Значения ИН в группе процедур с отрицательным эффектом отражают состояние организма, находящегося в зоне адаптации при стрессовой ситуации [11]. Значения ИВР и ПАПР в данной группе отражают снижение активности парасимпатических влияний на нейрогуморальную регуляцию.

Таблица 2. Основные показатели ВСР при положительном и отрицательном эффекте БОС-процедур

Показатель ВСР	**Положительный эффект** (m ± SE)	**Отрицательный эффект** (m ± SE)	**p**
SDNN, мс	62,0 ± 6,02	41,3±3,1*	0,0426
CV, %	7,3 ± 0,69	4,9 ± 0,36*	0,0441
TP, мс^2	4615,8 ± 919,21	2036,7 ± 318,71	0,0695
VLF, мс^2	2365,0 ± 221,14	801,3 ± 127,86*	0,0026
LF norm, n.u.	83,8 ± 1,51	72,9 ± 3,98*	0,0350
HF norm, n.u.	16,2 ± 1,51	27,1 ± 3,98*	0,0350
LF/HF	5,4 ± 0,67	2,8 ± 0,50*	0,0371
%HF	6,9 ± 1,28	15,3 ± 1,75*	0,0104
AMo, %	32,6 ± 3,49	49,3 ± 3,06*	0,0185
ИВР, у.е.	105 ± 20,77	218 ± 30,11*	0,0237
ПАПР, у.е.	38,3 ± 4,14	58,4 ± 3,53*	0,0168
ИН, у.е.	62,0 ± 12,71	128,7 ± 15,66*	0,0205

Примечание: * – различия статистически значимы, $p \leq 0,05$

Пациент 2 прошел курс из 5 БОС-процедур в течение 7 дней (рис.2). Основное заболевание: вибрационная болезнь I степени от воздействия локальной вибрации. Сопутствующее заболевание: профессиональный хронический обструктивный умеренно выраженный бронхит.

Положительная динамика значений TP (увеличение с 219 мс^2 до 532 мс^2) и ИН (снижение с 1060 усл.ед. до 346 усл.ед.) наблюдалась в течение всего курса БОС-терапии. Процедура «Снижение ЧСС с контролем тонуса сосудов по ФПГ» для данного пациента оказалась наиболее затруднительной, наблюдалось повышение ИН с 330 усл.ед. до 465 усл.ед., что позволяет исключить данную процедуру из персонифицированного протокола.

Среди пациентов исследуемой группы наблюдались нарушения в работе нейрогуморальной регуляции, сопровождающиеся переходом организма на более низкий гуморально-метаболический уровень. Некоторые авторы связывают данный феномен с влиянием факторов рабочей среды, что проявляется снижением суммарного вегетативного влияния на сердечной ритм, перераспределением его в сторону повышения симпатической активности и увеличением гуморально-метаболических влияний [10].

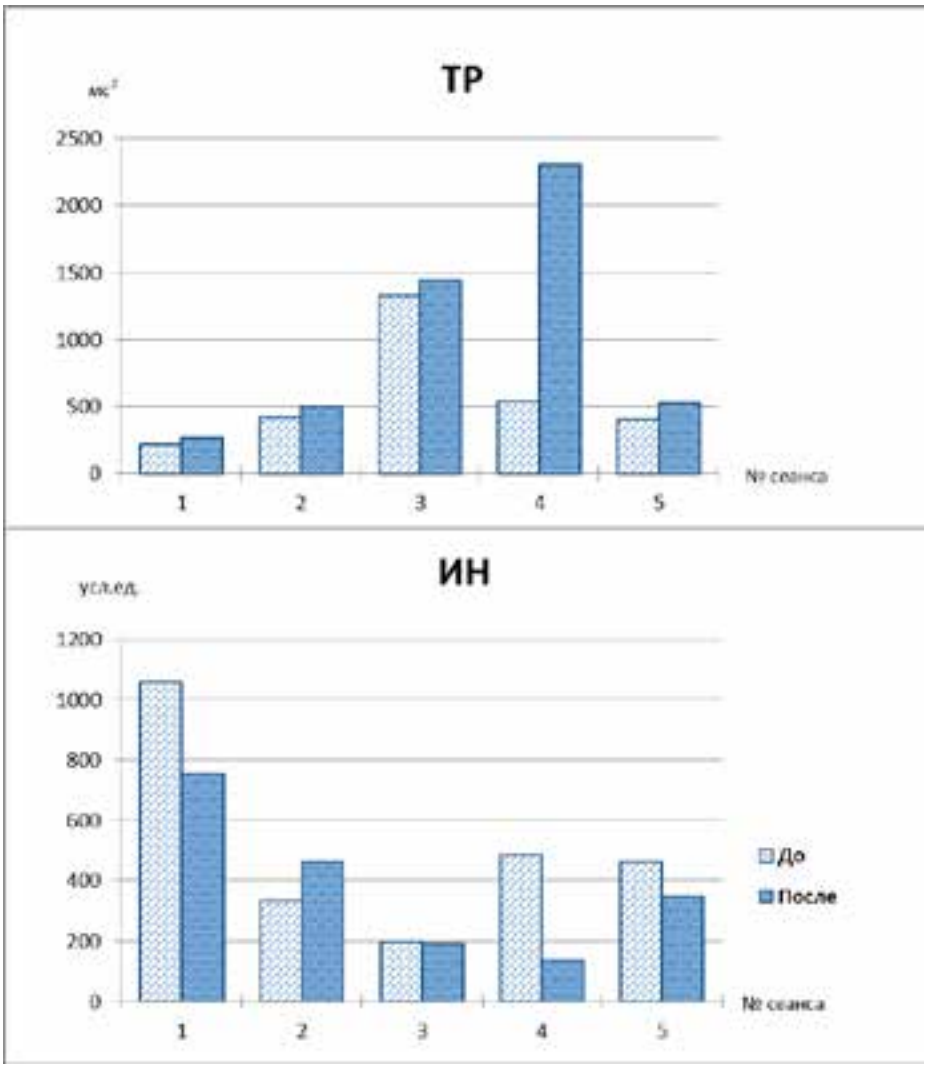


Рисунок 2. Динамика индекса напряжения (ИН) у пациента при прохождении курса БОС-терапии с измерением данных показателей до и после каждой процедуры. Процедуры: 1-Снижение ЧСС; 2 – Снижение ЧСС по ФПГ; 3 – Диафрагмальное дыхание; 4 – Тренинг по температуре; 5 – Альфа-тренинг

Кроме того, известно, что при профзаболеваниях регистрируются нарушения функции гипоталамо-гипофизарной системы [12]. Курс БОС-процедур направлен на восстановление баланса нарушенных связей. Положительный эффект прохождения процедур «Снижение ЧСС»,

«Диафрагмальное дыхание», «Тренинг по температуре» и «Альфа-тренинг», затрагивающих центральный механизм регуляции, подтверждает эффективность БОС-терапии для восстановления баланса нейрогуморальной регуляции. Изучение этого механизма будет способствовать повышению эффективности данного метода. Также, предельно важно учитывать индивидуальный оптимум в зависимости от индивидуальных функциональных резервов и адаптационных возможностей организма. Персонифицированный подбор тренингов БОС-терапии, с учетом наиболее эффективных для конкретного пациента процедур, обеспечивает позитивную динамику показателей нейрогуморальной регуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ когнитивных функций и нейрофизиологических процессов при адаптации человека к условиям Арктики / Е. П. Муртазина, И. И. Коробейникова, Л. В. Поскотинова [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2023. – Т. 31, № 2. – С. 293-304.
2. Можейко, Е. Ю. Обзор исследований использования БОС-терапии при реабилитации и восстановительном лечении пациентов неврологического профиля / Е. Ю. Можейко, О. В. Петряева // Доктор.Ру. – 2021. – Т. 20, № 9. – С. 43-47.
3. Штарк, М. Б. Биоуправление: исследовательская и практическая составляющие / М. Б. Штарк // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2004. – Т. 24, № 3. – С. 8-9.
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2023. – 368 с.
5. Патент № 2740564 C1 Российская Федерация, МПК A61H 1/00. Способ реабилитации пациентов с вибрационной болезнью: № 2020116651: заявл. 12.05.2020: опубл. 15.01.2021 / Л. С. Васильева, Н. В. Сливницына, Д. В. Русанова, О. Л. Лахман; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований".
6. Итоги и перспективы изучения профессиональных заболеваний у рабочих авиастроительной промышленности в Восточной Сибири / В. С. Рукавишников, В. А. Панков, М. В. Кулешова [и др.] // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 1(83). – С. 105-111.

7. Соловьевская, Н. Л. Оценка эффективности БОС-терапии методом газоразрядной визуализации / Н. Л. Соловьевская, П. С. Терещенко // Труды Кольского научного центра РАН. – 2020. – Т. 11, № 2-8(8). – С. 92-99.

8. Оценка эффективности БОС-тренинга по изменениям концентрации микроэлементов в биосредах / Л. И. Каменев, Н. Ю. Киркина, Е. Н. Наумова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. – Т. 12, № 3-4. – С. 35.

9. Сергеева, Е. Г. Биологическая обратная связь и коррекция вариабельности ритма сердца у спортсменов, тренирующихся на выносливость / Е. Г. Сергеева, Т. В. Ибрагимова, М. Д. Дидур // Интерактивная наука. – 2018. – № 4(26). – С. 32-36.

10. Мелентьев, А. В. Влияние шума и вибрации на нервную регуляцию сердца / А. В. Мелентьев, П. В. Серебряков, А. В. Жеглова // Медицина труда и промышленная экология. – 2018. – № 9. – С. 19-23.

11. Методы и приборы космической кардиологии на борту Международной космической станции / ред. Р.М. Баевский, О.И. Орлов. М.: Техносфера. – 2016. – 368 с.

12. Измеров И.Ф., Профессиональная патология [Электронный ресурс] : национальное руководство / Под ред. И.Ф. Измерова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 784 с.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ И САМОЧУВСТВИЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ 9-11-х КЛАССОВ

О.В. Тикашкина, М.Г. Болдырева

ФБУН «ФНЦГ имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора

Актуальность

Организация образовательного процесса является важным и управляемым фактором школьной среды, влияющим на состояние здоровья обучающихся. За счет высокой физиологической стоимости занятий и подготовки к ним, учебная деятельность может быть очень утомительна для обучающихся [1-3].

В своих трудах Ф.Ф. Эрисман в XIX веке указывал на перегруженность детей учебными и домашними занятиями [4]. Проблема школьных перегрузок сохраняет свою актуальность и в настоящее время.

В старших классах учебная деятельность приобретает новую направленность и содержание, ориентированное на выбранную специальность. Для этого в школах организуется профильное обучение (физико-математический, социально-экономический, гуманитарный, медико-биологический профили и другие) с целенаправленной подготовкой к ЕГЭ по выбранным предметам и предпрофильной подготовкой, что влечет за собой увеличение времени на выполнение домашних заданий. У школьников формируется избирательное отношение к учебным предметам, необходимым для поступления в выбранный вуз (например, химия и биология для будущих медиков), которые более углубленно изучаются при посещении подготовительных курсов и репетиторов, что приводит к увеличению времени на дополнительные занятия и подготовки к ним вне школы.

Высокая учебная нагрузка определяет разнообразие клинических проявлений. Большинство проявлений высокой учебной нагрузки манифестирует в подростковом возрасте. По мере взросления ребенка и хронизации проблемы происходит определенная трансформация клинических симптомов и синдромов. В зависимости от стадии компенсации разворачивается клиническая картина от жалоб (например, головные боли, головокружения), к субкоменсации (например, церебрастении, неврастении, невротические реакции) до стадии декомпенсаци (например, неврозы, депрессивные расстройства) [5].

Оптимизация учебной нагрузки стояла перед гигиенистами детства на протяжении почти пятидесяти лет [6]. В действующих документах санитарного законодательства[1] содержатся

[1] СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 2 с изменениями, внесенные постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 30.12.2022 № 24 (далее – СанПиН 1.2.3685-21).

нормативные показатели образовательной нагрузки: учебная недельная нагрузка, продолжительность выполнения домашних заданий в день. При этом не создается полного понимания об общем времени, затрачиваемом обучающимися на образовательную деятельность.

Целью работы являлась оценка суммарной образовательной нагрузки обучающихся 9-11-х классов.

Материалы и методы

В апреле 2023 года было проведено анонимное онлайн анкетирование обучающихся 9-11-х классов общеобразовательных организаций г. Москвы, Московской и Смоленской областей. В опросе приняли участие 636 подростков в возрасте от 14 до 18 лет, в том числе 255 юношей (40,1%) и 381 девушка (59,9%). В 9-х классах обучалось 317 (49,8%) подростков, в 10-х – 202 (31,8%) и в 11-х – 117 (18,4%).

Была рассчитана продолжительность учебной недельной нагрузки в часах и продолжительность выполнения домашних заданий в неделю на основании нормативных показателей образовательной нагрузки СанПиН 1.2.3685-21 в зависимости от продолжительности учебной недели (Таблица 1).

Таблица 1. Компоненты образовательной недельной нагрузки в соответствии с нормативами СанПиН 1.2.3685-21 и их продолжительность

Показатели		**5-дневная учебная неделя**			**6-дневная учебная неделя**		
		9 класс	**10 класс**	**11 класс**	**9 класс**	**10 класс**	**11 класс**
Учебная недельная нагрузка, не более	Количество уроков *	33	34	34	36	37	37
	Количество часов **	24 ч 45 мин	25 ч 30 мин	25 ч 30 мин	27 ч 00 мин	27 ч 45 мин	27 ч 45 мин
Продолжительность выполнения домашних заданий день*/неделя**, не более (час)		3 ч 30 мин / 17 ч 30 мин			3 ч 30 мин / 21 ч 00 мин		

* Показатели, включенные в Таблицу 6.6. «Требования к организации образовательного процесса» СанПиН 1.2.3685-21

** Представлены показатели времени методом дополнительного расчета.

Фактическая продолжительность учебной недельной нагрузки и продолжительность выполнения домашних заданий основной образовательной программы сравнивались с нормативными показателями образовательной нагрузки.

Для расчета суммарной образовательной недельной нагрузки были включены 4 показателя: продолжительность учебной недельной нагрузки, продолжительность дополнительной учебной нагрузки статической направленности в неделю, продолжительность выполнения домашних заданий основной образовательной программы за неделю,

Продолжительность выполнения домашних заданий для дополнительной учебной нагрузки статической направленности в неделю.

Для оценки самочувствия обучающихся рассчитывалась распространенности жалоб, возникающих у обучающихся один раз в неделю и чаще и определялось число обучающихся с высокой вероятностью развития синдромов невротического круга с помощью разработанных алгоритмов посиндромного обобщения жалоб. на основании данных о наиболее распространенных жалобах при том или ином синдроме, описанном в современных руководствах и методических статьях [7, 8].

Обучающиеся были разделены на две группы: группа, в которую вошли подростки, у которых можно предположить наличие синдромов и имеющих жалобы и группа, в которую вошли подростки, у которых отсутствовал синдромы и жалобы. Проводилось сравнение продолжительности суммарной образовательной недельной нагрузки среди подростков, у которых можно предположить наличие синдромов и имеющих жалобы и у которых отсутствовали синдромы и жалобы.

Полученные показатели подвергались статистической обработке с использованием программ Microsoft Office Excel 2016 и StatTech v. 4.0.6 (разработчик – ООО "Статтех", Россия) и онлайн калькуляторов (https://www.medstatistic.ru/calculators.html).

Для оценки количественных данных применялся критерий Колмагорова-Смирнова для оценки соответствия нормальному распределению. В случае распределения данных, отличных от нормального, для описания результатов указывались значения медианы (Me) и квартилей (Q_{25}, Q_{75}), для сравнения двух независимых групп данных использовался U-критерий Манна-Уитни, для сравнения трех независимых групп данных – критерий Краскела-Уоллиса.

При описании качественных показателей указывались абсолютные значения и процентные доли. Для сравнения качественных данных использовался критерий χ^2 Пирсона.

Результаты

По данным опроса все подростки обучаются в первую смену по 5-дневной учебной неделе. Анализ ответов респондентов показал, что среднее количество уроков в неделю у обучающихся 9-х классов составляет 34 урока (Q_{25}=34 урока, Q_{75}=35 уроков), у обучающихся 10-х классов 35 уроков (Q_{25}=33 урока, Q_{75}=35 уроков), у обучающихся 11-х классов 35 уроков (Q_{25}=30 уроков, Q_{75}=35 уроков) (Таблица 2). У 67,8% подростков количество уроков в неделю превышает гигиенический норматив: у 77,9% девятиклассников, у 65,1% десятиклассников и у 52,1% одиннадцатиклассников.

Таблица 2. Характеристика образовательной нагрузки обучающихся по полу и классам

Учебная нагрузка							
Учебная недельная нагрузка (урок)	9 класс		10 класс		11 класс		СК*
	Me=34 [a] Q_{25}=34 Q_{75}=35		Me=35 [b] Q_{25}=33 Q_{75}=35		Me=35 [a] Q_{25}=30 Q_{75}=35		H=14,114 v=2 p=0,001
Учебная недельная нагрузка не соответствует гигиеническим нормативам	Юноши		Девушки		Всего		СК
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
	183	71,8	248	65,1	431	67,8	χ^2=3,110 df=1 p=0,078
	9 класс		10 класс		11 класс		СК
	247	77,9 [a]	123	60,9 [b]	61	52,1 [b]	χ^2=32,412 df=2 p=0,000
Продолжительность выполнения домашних заданий в день							
Продолжительность выполнения домашних заданий в день	Юноши		Девушки		Всего		СК
	Me=2 ч 00 мин [a] Q_{25}=1 ч 15 мин Q_{75}=2 ч30 мин		Me=3 ч 00 мин [b] Q_{25}=2 ч 00 мин Q_{75}=4 ч 00 мин		Me=2 ч 27 мин Q_{25}=1 ч 30 мин Q_{75}=3 ч 30 мин		U=33130,0 Z=-6,826 P=0,000
	9 класс		10 класс		11 класс		СК
	Me=2 ч 00 мин [a] Q_{25}=1 ч 30 мин Q_{75}=3 ч 07 мин		Me=2 ч 30 мин [b] Q_{25}=2 ч 00 мин Q_{75}=4 ч 00 мин		Me=3 ч 00 мин [b] Q_{25}=1 ч 57 мин Q_{75}=4 ч 00 мин		H=14,548 v=2 p=0,001
Продолжительность выполнения домашних заданий превышает гигиенические нормативы	Юноши		Девушки		Всего		СК
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
	30	11,8 [a]	116	30,4 [b]	146	23,0	χ^2=30,144 df=1 p=0,000
	9 класс		10 класс		11 класс		СК
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
	52	16,4 [a]	63	31,2 [b]	31	26,5 [a b]	χ^2=16,264 df=2 p=0,000
Дополнительная учебная нагрузка							
Обучающиеся, которые имеют дополнительные занятия	Юноши		Девушки		Всего		СК
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
	189	74,1 [a]	314	82,4 [b]	503	79,1	χ^2=6,358 df=1 p=0,012
	9 класс		10 класс		11 класс		СК
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
	243	76,7 [a]	157	77,7 [a b]	103	88,0 [b]	χ^2=7,023 df=2 p=0,030
Продолжительность дополнительной	Юноши		Девушки		Всего		СК
	Me=6 ч 00 мин [a]		Me=8 ч 00 мин [b]		Me=7 ч 00 мин Q_{25}=4 ч 00 мин		U=25506,5 Z=-2,640

учебной нагрузки в неделю	Q_{25}=3 ч 52 мин Q_{75}=10 ч 45 мин	Q_{25}=4 ч 30 мин Q_{75}=12 ч 00 мин	Q_{75}=11 ч 30 мин	p=0,008
	9 класс	10 класс	11 класс	СК
	Me=5 ч 45 мин [a] Q_{25}=3 ч 30 мин Q_{75}=09 ч 00 мин	Me=7 ч 00 мин [a] Q_{25}=4 ч 00 мин Q_{75}=10 ч 15 мин	Me=12ч 30 мин [b] Q_{25}=09 ч 00 мин Q_{75}=19 ч 00 мин	H=97,913 v=2 p=0,000
Продолжительность выполнения домашних заданий для дополнительной учебной нагрузки в неделю	Юноши	Девушки	Всего	СК
	Me=2 ч 00 мин [a] Q_{25}=1 ч 00 мин Q_{75}=4 ч 00 мин	Me=3 ч 00 мин [b] Q_{25}=1 ч 15 мин Q_{75}=5 ч 02 мин	Me=6 ч 00 мин Q_{25}=1 ч 30 мин Q_{75}=3 ч 30 мин	U=33130,0 Z=-6,826 p=0,000
	9 класс	10 класс	11 класс	СК
	Me=2 ч 00 мин [a] Q_{25}=1 ч 00 мин Q_{75}=3 ч 30 мин	Me=2 ч 00 мин [a] Q_{25}=1 ч 00 мин Q_{75}=4 ч 15 мин	Me=5 ч 00 мин [b] Q_{25}=3 ч 00 мин Q_{75}=10 ч 00 мин	H=76,178 v=2 p=0,000
Суммарная образовательная недельная нагрузка				
Продолжительность суммарной образовательной недельной нагрузки	Юноши	Девушки	Всего	СК
	Me=40 ч 00 мин [a] Q_{25}=35 ч 30 мин Q_{75}=48 ч 15 мин	Me=46 ч 15 мин [b] Q_{25}=40 ч 15 мин Q_{75}=54 ч 15 мин	Me=44 ч 00 мин Q_{25}=37 ч 45 мин Q_{75}=52 ч 15 мин	U=34145,5 Z=-6,355 p=0,000
	9 класс	10 класс	11 класс	СК
	Me=41 ч 30 мин [a] Q_{25}=36 ч 22 мин Q_{75}=48 ч 22 мин	Me=45 ч 00 мин [b] Q_{25}=38 ч 15 мин Q_{75}=54 ч 04 мин	Me=49 ч 30 мин [b] Q_{25}=42 ч 07 мин Q_{75}=58 ч 22 мин	H=43,820 v=2 p=0,000

* Статистические критерии: U – критерий Манна-Уитни, Z – значение стандартизированного показателя, p – уровень значимости различий; χ^2 – критерий χ^2 Пирсона, df – число степеней; H – критерий Краскела-Уоллиса, v – число степеней.

a, b, c – указание значимости различий с помощью латинских букв рядом с процентами, показывает между какими группами есть статистически значимые различия. Одинаковые буквы рядом с процентами, например, 33,7 [a] и 42,7 [a] свидетельствует об отсутствии различий между группами; разные латинские буквы 77,9 [a] и 60,9 [b] свидетельствует о статистически значимых различиях между группами.

Продолжительность выполнения домашних заданий в среднем в день составляет 2 часа 27 минут (Q_{25}=1 час 30 минут, Q_{75}=3 часа 30 минут), 23,0% подростков уделяют домашним заданиям более 3,5 часов, что не соответствует гигиеническим нормативам. Девушки по сравнению с юношами проводят больше времени за выполнением домашних заданий (p=0,000), обучающиеся 10-х и 11-х классов больше, чем обучающиеся 9-х классов (p=0,000).

Среди обучающихся, помимо обязательной школьной программы, 79,1% подростков имеет дополнительную учебную нагрузку, посещая занятия статической направленности (подготовительные курсы, занятия с репетитором, в музыкальной школе и кружках), из них 82,4% – девушки и 74,1% – юноши (p=0,012); по классам: 76,7% – обучающиеся 9-х классов, 77,7% – 10-х классов, 88,0% – 11-х классов (p=0,030). Средняя продолжительность дополнительных занятий значительно возрастает в 11-х классах (p=0,000), девушки тратят на дополнительное обучение на 2 часа больше по сравнению с юношами (p=0,008). На выполнение домашних заданий для дополнительных занятий девушки в среднем тратят на 1 час больше, чем юноши – 3 часа против 2 часов (p=0,000), значительную нагрузку имеют обучающиеся 11-х классов – 5 часов, по сравнению с 9-ми и 10-ми классами – 2 часа (p=0,000).

Среднее время суммарной образовательной недельной нагрузки составляет 44 часа (Q_{25}=37 часов 45 минут, Q_{75}=52 часа 15 минуты), у девушек выше – 46 часов 15 минут (Q_{25}=40 часов 15 минут, Q_{75}=54 часа 15 минуты), по сравнению с юношами – 40 часов 00 минут (Q_{25}=35 часов 30 минут, Q_{75}=48 часов 15 минут) (p=0,000). Продолжительность суммарной образовательной недельной нагрузки выше у обучающихся 10-х и 11-х классов по сравнению с обучающимися 9-х классов (p=0,000).

Анализ самочувствия обучающихся показал, что у обучающихся, у которых можно было предположить наличие астенического, обсессивно-фобического синдромов, синдромов головной боли и вегетативной дисфункции, продолжительность суммарной образовательной недельной нагрузки была выше, чем у обучающихся с отсутствием синдромов (Таблица 3).

Таблица 3. Распространенность синдромов и жалоб среди обучающихся 9-11-х классов

Показатели	Наличие синдрома		Отсутствие синдрома		U; Z; p*
	Me	Q_{25}-Q_{75}	Me	Q_{25}-Q_{75}	
Синдромы					
Астенический синдром	46 ч 07 мин [a]	40 ч 15 мин 54 ч 41 мин	43 ч 00 мин [b]	36 ч 45 мин 51 ч 15 мин	32074,500 -3,271 0,001
Синдром головной боли	47 ч 00 мин [a]	40 ч 15 мин 56 ч 00 мин	43 ч 15 мин [b]	36 ч 45 мин 51 ч 15 мин	24424,000 -3,702 0,000
Обсессивно-фобический синдром	45 ч 30 мин [a]	39 ч 30 мин 54 ч 07 мин	43 ч 15 мин [b]	36 ч 45 мин 51 ч 45 мин	34451,500 -2,448 0,014
Синдром вегетативной дисфункции	45 ч 37 мин [a]	40 ч 30 мин 57 ч 37 мин	43 ч 45 мин [b]	37 ч 30 мин 51 ч 75 мин	11570,500 -2,076 0,038
Жалобы, возникающие у обучающихся один раз в неделю и чаще					
Повышенная отвлекаемость	47 ч 00 мин [a]	39 ч 19 мин 55 ч 30 мин	43 ч 07 мин [b]	37 ч 00 мин 51 ч 15 мин	30565,000 -2,992 0,003

Боли и (или) ощущение тяжести в мышцах шеи и (или) спины	46 ч 00 мин [a]	38 ч 19 мин 56 ч 00 мин	43 ч 22 мин [b]	37 ч 30 мин 51 ч 15 мин	25478,500 -2,190 0,029
Чуткий неспокойный сон	46 ч 15 мин [a]	39 ч 07 мин 55 ч 37 мин	43 ч 45 мин [b]	37 ч 30 мин 51 ч 45 мин	21130,500 -1,998 0,046
Трудное пробуждение по утрам	45 ч 52 мин [a]	39 ч 07 мин 55 ч 00 мин	42 ч 52 мин [b]	37 ч 00 мин 50 ч 52 мин	39020,000 -2,889 0,004

* – U – критерий Манна-Уитни, Z – значение стандартизированного показателя, p – уровень значимости различий
a, b – указание значимости различий с помощью латинских букв, показывает между какими группами есть статистически значимые различия.

У обучающихся с жалобами на чуткий неспокойный сон, на трудное пробуждение, повышенную отвлекаемость, на боли и ощущение тяжести в мышцах шеи и спины продолжительность суммарной образовательной недельной нагрузки статистически значима выше, чем у обучающих, не имеющих данных жалоб.

Продолжительность суммарной образовательной недельной нагрузки была выше у обучающихся, неудовлетворенных своей жизнью (Me=46 ч 15 мин, Q_{25}=39 ч 07 мин, Q_{75}=56 ч 52 мин), чем у удовлетворенных ей (Me=43 ч 15 мин, Q_{25}=37 ч 00 мин, Q_{75}=51 ч 15 мин).

Заключение

1. Учебная недельная нагрузка превышает гигиенический норматив чаще у обучающихся 9-х классов; продолжительность выполнения домашних заданий выше у девушек, чем у юношей и среди обучающихся 10-х и 11-х классов, чем у обучающихся 9-х классов; объем дополнительных занятий больше у девушек, чем у юношей; у обучающихся 11-х классов, чем у обучающихся 9-х и 10-х классов.
2. Среднее время суммарной образовательной недельной нагрузки у обучающихся 9-11-х классов составляет 44 часа 00 минут, у юношей – 40 часов 00 минут, у девушек – 46 часов 15 минут; у девятиклассников – 41 час 30 минут, у десятиклассников – 45 часов 00 минут, у одиннадцатиклассников – 49 часов 30 минут.
3. У обучающихся, которые имели более продолжительную суммарную образовательную недельную нагрузку, чаще отмечались синдромы и жалобы невротического круга, и были менее удовлетворены своей жизнью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучма В.Р., Ефимова Н.В., Ткачук Е.А., Мыльникова И.В. Гигиеническая оценка напряженности учебной деятельности обучающихся 5-10 классов общеобразовательных школ // Гигиена и санитария. – 2016. – № 95(6). – С. 552-558.
2. Кондрашов П.Е., Майоров А.Н. Совершенствование регламентации учебной нагрузки обучающихся по программам общего образования // Государственное управление. Электронный вестник. – 2022. – № 94. – С. 32-48.
3. Гозак С.В., Полька Н.С. Гигиенические подходы к регламентации учебной нагрузки и распорядка дня школьников // Здоровье и окружающая среда: Сборник материалов республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» / глав. редактор С.И. Сычик. Т. 1. – Минск: Государственное учреждение «Республиканская научная медицинская библиотека», 2017. – С. 229.
4. Эрисман Ф.Ф. Избранные произведения. – М: Медгиз, 1959. – 390 с.
5. Каркашадзе Г.А., Намазова-Баранова Л.С., Захарова И.Н., Макарова С.Г., Маслова О.И. Синдром высоких учебных нагрузок у детей школьного и подросткового возраста // Педиатрическая фармакология. – 2017. – № 1. – С. 7-23.
6. Кучма В.Р., Степанова М.И., Седова А.С., Тикашкина О.В. Гигиеническая регламентация образовательной нагрузки школьников // Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2023. – № 2. – С. 15-32.
7. Кучма В.Р., Седова А.С., Степанова М.И., Рапопорт И.К., Поленова М.А., Соколова С.Б., Александрова И.Э., Чубаровский В.В. Особенности жизнедеятельности и самочувствия детей и подростков, дистанционно обучающихся во время эпидемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 // Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2020. – № 2. – С. 4-23.
8. Шевченко Ю.С. Детская и подростковая психиатрия: клинические лекции для профессионалов. – М.: Медицинское информационное агентство; 2017. – 1124 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕДИЦИНСКИХ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В МЕДИЦИНЕ ТРУДА

П.О. Хвалюк[1,2]

[1]ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

[2]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва, Россия

Обоснование. Ранее проводимые эпидемиологические исследования предполагали использование персонифицированной информации в научных целях [1]. В настоящее время, их проведение затруднено из-за ограничений, налагаемых законодательством РФ. В РФ существует проблема выявления крайне малого случая профессиональных злокачественных новообразований (ЗН).

Цель исследования. Разработка подходов к использованию информационных технологий для выявления злокачественных новообразований (ЗН) потенциально связанных с воздействием профессиональных факторов.

Методы. На первом этапе было проведено описательное исследование смертности от ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34) с использованием данных формы Росстата С-51 «Распределение умерших по половозрастным группам и причинам смерти». Были рассчитаны «грубые» показатели смертности, затем стандартизованы с использованием прямого метода. На втором этапе была сформирована группа исследования с использованием ВИМИС «Онкология». Критериями включения стали: период наблюдения: с 01.01.2021 по 31.12.2021; мужчины в возрасте от 40 до 65 лет с диагнозом ЗН трахеи, бронхов и легкого. Проживающие в Забайкальском крае. Была разработана анкета, утвержденная локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России от 20.01.2022.

Результаты. В ходе описательного этапа исследования смертности от ЗН трахеи, бронхов, легких в Забайкальском крае было обнаружено превышение стандартизованных показателей. На втором этапе была сформирована выборка: критериям включения соответствовало 2 пациента. Активное участие врача-профпатолога и врачей-онкологов позволило заподозрить в ходе анкетирования потенциальное влияние профессиональных факторов на здоровье пациентов. В дальнейшем установлен диагноз хронического профессионального заболевания.

Заключение. По нашему мнению, использование баз данных ВИМИС на этапе предварительного анализа возможного влияния профессиональных факторов на развитие профессиональной патологии является перспективным направлением эпидемиологических исследований в области медицины труда.

Ключевые слова. профессиональные заболевания, злокачественные новообразования, информационные системы.

THE USE OF MEDICAL INFORMATION SYSTEMS FOR CONDUCTING EPIDEMIOLOGICAL STUDIES IN OCCUPATIONAL MEDICINE

P.O. Khvaliuk[1,2]

[1] I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

[2] Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russia

Background: Previously conducted epidemiological studies used personalized information [1]. Currently, their implementation is difficult due to restrictions imposed by the legislation of the Russia. Few occupational malignant neoplasms (MN) are detected in Russia.

Aims: Development of approaches to the use of information technologies for the detection of MN potentially associated with the influence of professional factors.

Methods: At the first stage, a descriptive study of mortality from MN of the trachea, bronchi, lungs was conducted. "Rough" mortality rates were standardized. At the second stage, a research group was formed using VIMIS "Oncology". The inclusion criteria were: follow-up period: from 01.01.2021 to 31.12.2021; men aged 40 to 65 years with a diagnosis of MN of the trachea, bronchi and lung, living in the Zabaykalsky Krai. A questionnaire was developed, approved by the local ethics Committee of the First Moscow State Medical University.

Results: As a result of a descriptive study, the excess of standardized rates was revealed. At the second stage, a sample was formed. The active participation of the occupational pathologist and oncologists made it possible to suspect the potential influence of professional factors on the health of patients during the survey. A diagnosis of chronic occupational disease was established.

Conclusion. In our opinion, the use of VIMIS databases at the stage of preliminary analysis of the possible influence of professional factors on the development of occupational pathology is a promising area of epidemiological research in the field of occupational medicine.

Keywords. occupational diseases, malignant neoplasms, information systems.

Обоснование. Актуальным вопросом в медицине труда является установление причинно-следственной связи между влиянием профессиональных факторов и развитием заболеваний (профессиональных и производственно-обусловленных). Одним из методов установления такой взаимосвязи является проведение эпидемиологических исследований. Осуществляемые ранее аналитические исследования (обычно когортные, а также исследования по типу «случай-контроль») предполагали использование персонифицированной информации в научных целях [1]. Однако, в настоящее время, проведение таких эпидемиологических исследований затруднено из-за ограничений, налагаемых законодательством РФ. Гарантия неприкосновенности частной жизни физического лица (пациента) в РФ обеспечивается частью 1 статьи 24 Конституции РФ В частности, доступ к персональным данным пациентов ограничен Федеральным законом N 152-ФЗ «О персональных данных» от 27.07.2006 г., а также Федеральным законом N 519-ФЗ «О

внесении изменений в Федеральный закон «О персональных данных» от 30.12.2020 г. Реализация эпидемиологических исследований играет важную роль в развитии современной науки, и требует поиска новых подходов к их проведению [2].

Так, одним из вариантов, может быть, использование в научных целях современных информационных технологий. Их применение в здравоохранении берет свое начало еще в конце прошлого века, и представляет собой использование разнообразных программных продуктов Активная цифровизация здравоохранения в РФ началась в 2008 г. с создания департамента информационных технологий и связи Минздравсоцразвития (департамент цифрового развития и информационных технологий Минздрава России), которым была разработана концепция единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения (ЕГИСЗ) [3,4]. В 2011 г. был принят Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ N 364 «Об утверждении концепции создания единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения» от 28.04.2011 г. С 2019 г. цифровизация осуществляется в рамках федерального проекта «Создание единого цифрового контура в здравоохранении на основе единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения (ЕГИСЗ)». Целью проекта является внедрение электронного документооборота, телемедицинских технологий, а также увеличение эффективности функционирования системы здравоохранения за счет взаимодействия медицинских организаций на основе ЕГИСЗ, внедрения цифровых технологий, формирующих единый цифровой контур здравоохранения. В п.3 Постановления Правительства РФ от 9 февраля 2022 г. N 140 «О единой государственной информационной системе в сфере здравоохранения» одной из задач является использование обезличенной информации о пациентах в статистических и иных исследовательских целях [5].

С 2019 г. начали свое функционирование вертикально-интегрированные медицинские информационные системы (ВИМИС), объединенные с ЕГИСЗ (Единой государственной информационной системой в сфере здравоохранения) и региональными ГИС СЗ (Государственными информационными системами в сфере здравоохранения) по следующим профилям: онкология, акушерство и неонатология, сердечно-сосудистые заболевания, профилактическая медицина. ВИМИС обеспечивает информационную, методическую, организационную поддержку деятельности участников системы здравоохранения вышеуказанного профиля; проводит автоматический мониторинг и маршрутизацию пациентов, предоставляет данные в научных целях для разработки новых методов диагностики и лечения. Предпосылкой создания ВИМИС являлось исполнение Указа Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 г. N 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» с целью решения проблем, одна из которых - это отсутствие инструмента мониторинга, анализа и контроля основных эпидемиологических показателей.

Федеральный проект «Борьба с онкологическими заболеваниями» является приоритетным направлением национального проекта «Здравоохранение». Показателем эффективности работы онкологической службы является снижение смертности от данных заболеваний, что обеспечивается проведением первичной, вторичной и третичной профилактики. В основе создания профилактических программ лежат крупные исследования, в том числе и эпидемиологические [6,7].

Одной из ведущих локализаций ЗН в структуре смертности в мире, а также в РФ среди мужчин являются органы дыхания, в первую очередь - рак легкого (РЛ). Крупные международные исследования показывают, что РЛ наносит значительный экономический ущерб из-за больших затрат на лечение (на РЛ приходится 15% общих затрат на лечение рака в Европе), а также способствует росту смертности, и как следствие - уменьшению доли трудоспособного населения. ЗН данной локализации ассоциированы с низкой выживаемостью, что в совокупности с высокими показателями заболеваемости, инвалидности, смертности, позволяет их отнести к социально-значимым заболеваниям. Существует множество факторов, которые могут способствовать развитию ЗН трахеи, бронхов, легкого (С33, С34). Так Международное агентство по изучению рака (МАИР) классифицирует факторы риска развития рака на категории (группы) по степени доказанности канцерогенного эффекта (достаточные или ограниченные). Так для рака легкого выделяют более 30 факторов, имеющих достаточные доказательства воздействия, и около 20 с ограниченной доказанностью Большую долю, в частности, занимают профессиональные факторы [8-11].

В рамках рассмотрения ЗН как профессиональной патологии следует учитывать то факт, что в РФ происходит значительный недоучет случаев ЗН профессионального генеза. В период с 1987 по 2019 гг. было зарегистрировано лишь 1050 случаев профессиональных ЗН, а расчетное число составляет порядка 11600 случаев в год При этом, по данным международных исследований ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34) составляют порядка 16,5–21% (до 30%) от всех профессиональных ЗН. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) по меньшей мере 1,7 миллиона случаев смерти от рака ежегодно можно было бы предотвратить путем улучшения условий труда и мест проживания [12,13].

Примером крупномасштабного эпидемиологического исследования, проводимого с использованием раковых регистров (канцер-регистров), является крупное многоцентровое популяционное исследование ЗН органов дыхания по типу «случай-контроль» - ICARE (2001-2007 гг.). Для формирования группы «случаев» использовались данные 10 канцер-регистров Франции. Целью являлось выявление новых факторов, оказывающих влияние на развитие, а также смертность от ЗН [14].

В РФ в г. Красноярске был разработан новый подход к выявлению случаев ЗН, развитие которых потенциально связанно с воздействием производственных факторов. Для этого начали применять информационную систему медицинской организации (МИС МО) КГБУЗ «Краевой клинической больницы» qMS. Система направляет уведомление о пациенте врачу-профпатологу (минуя лечащего врача) основываясь на соответствии двух критериев: списка канцерогеноопасных предприятий Красноярского края, где работал пациент, а также диагноза ЗН. В дальнейшем врач-профпатолог проводит необходимую оценку на основании данных о профессиональном маршруте, изучает соответствие локализации опухоли данным списка МАИР («Список локализаций рака при воздействии канцерогенов с достаточной доказанностью у человека») и в случае подозрения на профессиональное ЗН приглашает пациента на прием [15-16].

Цель исследования. Разработка подходов к использованию новых информационных технологий для выявления злокачественных новообразований (ЗН) потенциально связанных с воздействием профессиональных факторов (на примере ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34)).

Материалы и методы. На первом этапе было проведено описательное исследование смертности от ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34). Число впервые выявленных случаев смертей от ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34) среди мужского населения РФ в возрасте от 40 до 65 лет, в 2011-2022 гг. было получено из Формы Федерального статистического наблюдения С-51 «Распределение умерших по половозрастным группам и причинам смерти». В дальнейшем были рассчитаны «грубые» показатели смертности, которые в последствии были стандартизованы с использованием прямого метода. Был проведен квартильный анализ полученных показателей, с разделением на 4 квартиля, где 1 квартиль включал наименьшие показатели, а 4 – наибольшие.

На втором этапе сотрудниками ФГБНУ «НИИ МТ им. Н.Ф. Измерова» была сформирована группа исследования с использованием Вертикально-интегрированной медицинской информационной системы (ВИМИС) «Онкология». Критериями включения стали: 1. Период наблюдения: с 01.01.2021 по 31.12.2021 2. Пол: Мужской. Выбор был обусловлен более высокими, чем у женщин, показателями заболеваемости и смертности, а также тем фактом, что во вредных и опасных условиях труда заняты преимущественно мужчины; 3. Возраст: от 40 до 65 лет. Обусловлен латентным периодом развития злокачественного новообразования; 4. Диагноз: ЗН трахеи (С33), ЗН бронхов и легкого (С34). Данные ЗН имеют наибольшую распространенность, в частности наибольшие показатели смертности в Российской Федерации; 5. Статус пациента на момент проведения исследования: жив. Статус обусловлен предполагаемым последующим анкетированием пациентов; 6. Регион: Забайкальский край - при проведении первого описательного этапа эпидемиологического исследования смертности от ЗН

трахеи, бронхов, легких (С33, С34) за период с 2011 по 2022 гг. было обнаружено, что стандартизованные показатели для данного региона превышают показатели по РФ в целом. Выбор региона также был обусловлен наличием канцерогеноопасных предприятий. Квартильный анализ показал, что регион находился в 3 или 4 квартиле за вышеуказанный период (в 2022 г. – 4 квартиль).

Была разработана анкета, включающая вопросы касательно образа жизни (курение), профессионального маршрута, а также условий проживания. Анкета была утверждена Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) от 20.01.2022 (Выписка из протокола №01-22)).

Результаты. Результаты проводимого описательного эпидемиологического исследования показали, что смертность мужского населения в возрасте от 40 до 65 лет за период с 2011 по 2022 гг. в РФ имела достоверную ($p<0,005$) умеренную тенденцию к снижению со среднегодовым темпом -3,59%. В 2011 г. стандартизованный показатель на 100 тыс. мужчин составил 92,89 (95% ДИ 91,63-94,15), в 2022 г. - 62,87 (95% ДИ 61,85-63,88). В Дальневосточном федеральном округе (ДФО) среднегодовой темп снижения с 2011 по 2022 гг. составил -3,28%, стандартизованный показатель смертности в 2011 г. - 113,71 (95% ДИ 107,08-120,33), в 2022 г. - 83,23 (95% ДИ 78,14-88,32). В Забайкальском крае среднегодовой темп снижения в 2011-2022 гг. -1,92%, в 2011 г. стандартизованный показатель смертности на 100 тыс. мужского населения в возрасте от 40 до 65 лет составил 113,92 (95% ДИ 97,14-130,69), в 2022 г. - 104,26 (95% ДИ 87,88-120,64). Показатели смертности в Забайкальском крае и ДФО за 2011-2022 гг. были выше аналогичных показателей РФ (рис.1).

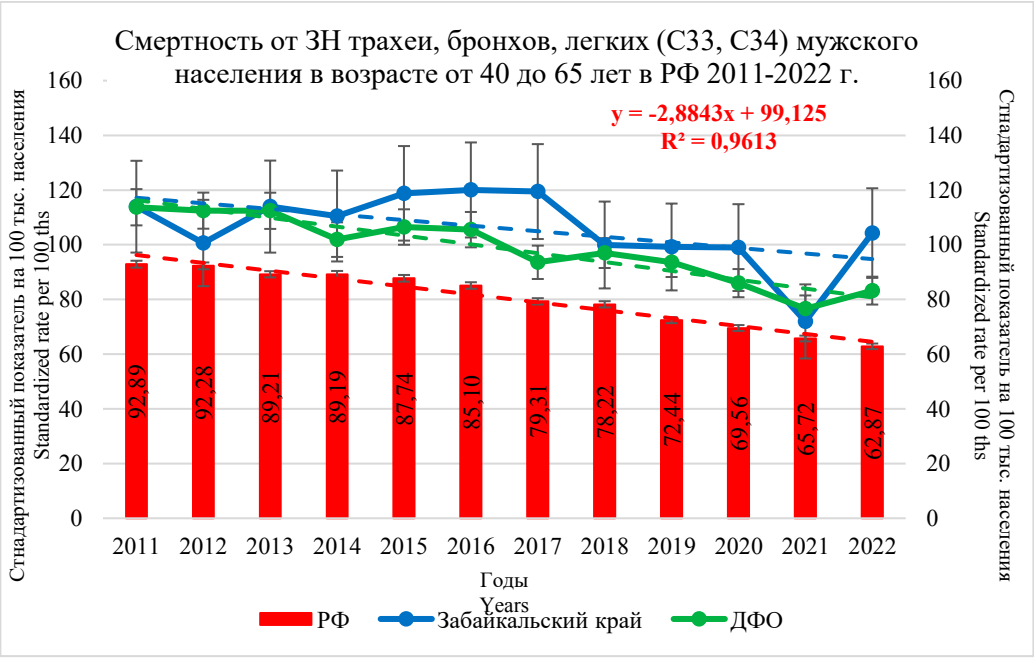


Рисунок 1. Смертность от ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34) мужского населения в возрасте от 40 до 65 лет в РФ за 2011-2022 гг.

Таким образом, основываясь на результатах описательного этапа исследования смертности от ЗН трахеи, бронхов, легких (С33, С34) в Забайкальском крае, которые показали превышение стандартизованных показателей за изучаемый период, было принято решение о проведении второго этапа с использованием ВИМИС по профилю «Онкология». Критериям включения исследуемой группы соответствовало 2 пациента. Активное участие врача-профпатолога совместно с врачами-онкологами позволило заподозрить в ходе анкетирования потенциальное влияние профессиональных факторов на здоровье пациентов в процессе осуществления ими профессиональной деятельности.

Пациентам был поставлен диагноз - С34.1 Злокачественное новообразование верхней доли, бронхов или легкого. Возраст заболевших составил 54 и 62 года, стаж курения 25 и 50 лет, профессиональный стаж 29 и 12 лет. Профессии: шахтер и водитель БелАЗа. Основные места работы пациентов АО «Разрез Харанорский» (вид деятельности по коду ОКВЭД ред.2 05.20.11 - добыча бурого угля (лигнита) открытым способом) и ООО «Балей золото» (ОКВЭД ред.2 07.29.41 - добыча руд и песков драгоценных металлов (золота, серебра и металлов платиновой группы)).

На основании «Трудового кодекса Российской Федерации» от 30.12.2001 N 197-ФЗ, Постановления Правительства РФ от 05.07.2022 N 1206 «О порядке расследования и учета случаев профессиональных заболеваний работников», и с учетом полученной информации, медицинские организации установили предварительный диагноз «хроническое профессиональное заболевание». В дальнейшем пациенты были направлены в центр профессиональной патологии, где на основании ст. 214 ТК РФ, ч. 1 ст. 5 Федерального закона от 24.07.98 N 125-ФЗ, Приказа Минздравсоцразвития РФ от 27.04.2012 № 417н, СП 2.1.3678-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг» а также выписки из медицинской документации, сведениях о результатах предварительных и периодических медицинских осмотров, санитарно-гигиенической характеристики условий труда, копии трудовой книжки и сведениях о трудовой деятельности, специальной оценки условий труда рабочего места работника, результатов осмотров и исследований проведенных врачами-специалистами в центре профессиональной патологии было установлено наличие причинно-следственной связи заболевания с профессиональной деятельностью и поставлен заключительный диагноз хронического профессионального заболевания.

Заключение. По нашему мнению, использование баз данных вертикально-интегрированных медицинских информационных систем (ВИМИС) на этапе предварительного анализа возможного влияния профессиональных факторов на развитие профессиональной

патологии является перспективным направлением эпидемиологических исследований в области медицины труда.

Ключевые слова. Злокачественные новообразования трахеи, бронхов, легкого, профессиональные факторы, профессиональные заболевания, медицинские информационные системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тихонова Г.И., Рубцова Н.Б. Опыт проведения эпидемиологических исследований онкоопасности электромагнитных полей в российской федерации // *Медицина труда и промышленная экология.* - 2020. - №9 – С. 587-591 [Tikhonova G.I., Rubtsova N.B. Electromagnetic field cancer risk epidemiological studies experience in the Russian Federation. Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology. 2020;60(9):587-591. (In Russ.) https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-9-587-591]

2. Колесников В.А., Гурьянова В. Р. Анализ изменений федерального закона № 152-ФЗ «О персональных данных» // *Аграрное и земельное право.* - 2022. - №11 (215). – С. 103-104. [Kolesnikov V.A., Gur'yanova V. R. Analiz izmenenii federal'nogo zakona № 152-FZ «O personal'nykh dannykh» // Agrarnoe i zemel'noe pravo. - 2022. - №11 (215). – S. 103-104. (In Russ.)]

3. Гусев А.В., Владзимирский А.В., Голубев Н.А., Зарубина Т.В. Информатизация здравоохранения Российской Федерации: история и результаты развития // *Национальное здравоохранение*. – 2021.- №2(3) – С. 5-17 [Gusev A.V., Vladzimirskii A.V., Golubev N.A., Zarubina T.V. Informatization of healthcare in the Russian Federation: history and results of development. National Health Care (Russia). 2021;2(3):5-17. (In Russ.) https://doi.org/10.47093/2713-069X.2021.2.3.5-17]

4. Сухих Г.Т., Пугачев П.С., Артемова О.Р. Роль вертикально-интегрированной медицинской информационной системы по профилям «Акушерство и гинекология» и «Неонатология» в цифровой трансформации службы охраны материнства и детства. // *Национальное здравоохранение*. – 2021 - №2(3) – С. 18-28 [Sukhikh G.T., Pugachev P.S., Artemova O.R. The role of vertically integrated medical information system “Obstetrics and gynecology” and “Neonatology” in the digital transformation of maternal and child healthcare. *National Health Care (Russia)*. 2021;2(3):18-28. (In Russ.) https://doi.org/10.47093/2713-069X.2021.2.3.18-28]

5. Паспорт федерального проекта Создание единого цифрового контура в здравоохранении на основе единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения (ЕГИСЗ) [Passport of the federal project Creation of a single digital contour in healthcare based on the unified state information system in the field of healthcare (EGISZ) (In Russ)] Доступно по: https://static-

0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/046/712/original/FP_Cifrovoj_kontur_zdravooxraneniya.pdf?1565344851. Ссылка активна на 09.02.2024.

6. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Концепция создания Федеральной системы «Онкология» (вертикально-интегрированной медицинской информационной системы по профилю «Онкология»). – 2019. – С. 71. [Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii. Kontseptsiya sozdaniya Federal'noi sistemy «Onkologiya» (vertikal'no-integrirovannoi meditsinskoi informatsionnoi sistemy po profilyu «Onkologiya»). – 2019. – S. 71 (In Russ)]

7. Ефремов С.А., Петкау В.В., Груздева Е.А. Внедрение системы поддержки работы онкологической службы на уровне региона // Менеджер здравоохранения. - 2021.- №2. – С. 25-30 [Efremov S.A., Petkau V.V., Gruzdeva E.A. Vnedrenie sistemy podderzhki raboty onkologicheskoi sluzhby na urovne regiona // Menedzher zdravookhraneniya. - 2021.- №2. – C. 25-30 (In Russ)]

8. GBD 2019 Respiratory Tract Cancers Collaborators. Global, regional, and national burden of respiratory tract cancers and associated risk factors from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2021;9(9):1030-1049. doi:10.1016/S2213-2600(21)00164-8

9. Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, et al. Economic burden of cancer across the European Union: a population-based cost analysis. *The Lancet Oncology.* 2013;14(12):1165-74

10. Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M. Cancer statistics for the year 2020: An overview. International journal of cancer. 2021; doi:10.1002/ijc.33588

11. Мерабишвили В.М. и др. Рак легкого (С33, 34). Заболеваемость, смертность, достоверность учета, локализационная и гистологическая структура (популяционное исследование)// *Вопросы онкологии*. - 2021. - №67 (3). – С. 361-367 [Merabishvili V.M. et al. Rak legkogo (C33, 34). Zabolevaemost', smertnost', dostovernost' ucheta, lokalizatsionnaya i gistologicheskaya struktura (populyatsionnoe issledovanie)// Voprosy onkologii. - 2021. - №67 (3). – S. 361-367 (In Russ)]

12. List of classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, IARC Monographs Volumes 1–135 [Internet]. [updated 2023 Dec 1; cited 2024 Feb 9]. Available from: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2019/07/Classifications_by_cancer_site.pdf

13. Ильницкий А.П. Первичная профилактика рака / А.П. Ильницкий. – Москва : АБВ-пресс. - 2022. – С. 412 [Il'nitskii A.P. Pervichnaya profilaktika raka / A.P. Il'nitskii. – Moskva : ABV-press. - 2022. – S. 412]

14. Shankar A, Dubey A, Saini D, et al. Environmental and occupational determinants of lung cancer. *Translational Lung Cancer Research.* 2019;8(Suppl 1):S31-S49

15. Ben Khedher S, Neri M, Guida F the ICARE Study Group, et al Occupational exposure to endotoxins and lung cancer risk: results of the ICARE Study. *Occupational and Environmental Medicine*. 2017; 74: 667-679

16. Захаринская О.Н. и др. Опыт использования медицинской информационной системы QMS в выявлении профессиональной онкопатологии в Красноярском краевом центре профпатологии. *Медицина труда и промышленная экология.* -2017. №9. – С.74-75 [Zakharinskaya O.N. et al. Experience of information and analytical programs in activities of Krasnoyarsk regional center of occupational pathology. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2017;(9):74-75. (In Russ.)]

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Хвалюк Полина Олеговна [Polina O. Khvaliuk], адрес: Россия, 105275, г. Москва, пр-т Буденного, 31 [address: 31, Budennogo Ave., Moscow, Russia, 105275]; телефон: +7(902)091-09-92; ORCID: 0000-0002-5301-847X; eLibrary SPIN: 2340-5393, AuthorID: 1127369; e-mail: xvalyk@yandex.ru

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В ОЦЕНКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ СО СВИНЦОМ

А.Г. Хотулева, О.В. Хохлова, Н.Н. Анохин

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», г. Москва, Россия

Обоснование: Сердечно-сосудистые заболевания и их осложнения являются основными причинами смерти, в том числе лиц трудоспособного возраста. В комплексной системе профилактики сердечно-сосудистой патологии у работающих во вредных условиях труда значимым является анализ биомаркеров, связанных с патогенетическими механизмами влияния производственных факторов. Одним из доказанных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний является воздействие свинца.

Цель исследования: поиск информативных биохимических и молекулярно-генетических маркеров для включения в систему оценки сердечно-сосудистого риска у работающих в контакте со свинцом для оптимизации лечебно-профилактических мероприятий.

Методы: Основная группа: 82 мужчины, работающие на свинецперерабатывающем предприятии; контрольная группа: 30 мужчин, работающих вне контакта с вредными производственными факторами. Лабораторные исследования: определение свинца в крови, АЛК в моче, показателей липидного обмена (холестерин, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП), цитокинов (ИЛ-6, ФНО-α), полиморфных вариантов генов, ассоциированных с повышенной абсорбцией свинца (HFE rs1799945, rs1800562, VDR rs2228570), ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (ACE rs1799752, REN rs2368564, AGT rs4762). Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 10.0.

Результаты: У работников свинецперерабатывающего предприятия выявлены более низкие уровни ХС ЛПВП ($p<0,001$) при отсутствии различий по уровням общего холестерина и ХС ЛПНП, более высокие уровни провоспалительного ИЛ-6 ($p=0,043$). Выявлены взаимосвязи уровня ИЛ-6 с наличием гипертонической болезни ($\gamma=0,386$, $p=0,009$), уровня ХС ЛПВП со стажем работы ($r= -0,343$, $p=0,006$). Показана ассоциация с развитием гипертонической болезни у работников свинецперерабатывающего предприятия наличия минорных аллелей гена HFE (ОШ=2,622; 95% ДИ=1,018-6,750) и аллели Т гена AGT (ОШ=2,727; 95% ДИ=1,026-7,249).

Заключение: Выделены информативные биохимические и молекулярно-генетические маркеры, которые могут быть рекомендованы к исследованию у работников свинецперерабатывающего предприятия для объективизации выделения групп высокого риска развития сердечно-сосудистой патологии с учетом имеющегося профессионального контакта со свинцом.

Ключевые слова: воздействие свинца, показатели липидного обмена, цитокины, оценка сердечно-сосудистого риска, генетический полиморфизм

LABORATORY MARKERS IN THE ASSESSMENT OF CARDIOVASCULAR RISK IN OCCUPATIONAL EXPOSURE TO LEAD

A.G. Khotuleva, O.V. Khokhlova, N.N. Anokhin

FSBSI "Izmerov Research Institute of Occupational Health", Moscow, Russia

Background: Cardiovascular diseases and their complications are the main causes of death, including among people of working age. In a comprehensive system for the prevention of cardiovascular pathology among workers in hazardous working conditions, the analysis of biomarkers associated with the pathogenetic mechanisms of the influence of occupational factors is significant. One of the proven risk factors for the cardiovascular diseases is exposure to lead.

Aims: to search for informative biochemical and genetic markers for inclusion in the system for assessing cardiovascular risk in workers in contact with lead to optimize treatment and preventive measures.

Materials and methods: Main group: 82 men working at a lead processing plant; control group: 30 men working without contact with occupational factors. Laboratory tests: determination of lead in the blood, ALA in the urine, lipid metabolism parameters (cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol), cytokines (IL-6, TNF-α), polymorphic variants of genes associated with increased absorption of lead (HFE rs1799945, rs1800562, VDR rs2228570), renin-angiotensin-aldosterone system (ACE rs1799752, REN rs2368564, AGT rs4762). Statistical analysis was carried out using the Statistica 10.0 program.

Results: Workers at a lead processing plant showed lower levels of HDL cholesterol ($p<0.001$), with no differences in the levels of total cholesterol and LDL cholesterol, and higher levels of pro-inflammatory IL-6 ($p=0.043$). Interrelations between the level of IL-6 and the presence of hypertension ($\gamma = 0.386$, $p = 0.009$), and the level of HDL cholesterol with work experience ($r = -0.343$, $p = 0.006$) were identified. An association with the development of hypertension in workers at a lead processing plant was shown for the presence of minor alleles of the HFE gene (OR=2.622; 95% CI=1.018-6.750) and the T allele of the AGT gene (OR=2.727; 95% CI=1.026-7.249).

Conclusions: Informative biochemical and genetic markers have been identified that can be recommended for research in workers of a lead processing plant to objectify the identification of cardiovascular risk groups, taking into account occupational contact with lead.

Keywords: lead exposure, lipid metabolism indicators, cytokines, cardiovascular risk assessment, genetic polymorphism

Обоснование. Наиболее остро в сохранении трудового потенциала в РФ стоит проблема сверхсмертности мужчин трудоспособного возраста. По данным Росстата из общего числа умерших почти 30% составляют лица трудоспособного возраста, 80% не доживших до пенсии составляют мужчины, 55% от всех причин смерти составляют сердечно-сосудистые заболевания [1], что обусловливает актуальность проблемы профилактики кардиоваскулярной патологии.

При оценке риска сердечно-сосудистых заболеваний у работающих внимание сосредоточено на экстрапрофессиональных факторах, таких как курение, малоподвижный образ жизни и др. Однако в комплексе факторов, влияющих на развитие болезней системы кровообращения, важное значение имеют условия труда и связанные с ними профессиональные риски. Современная концепция этиопатогенеза болезней системы кровообращения включает в себя общие положения о мультифакториальности и полигенности этой патологии, а также о сложном характере взаимодействия генетических факторов с факторами среды в процессе развития заболевания [2].

В комплексной системе профилактики сердечно-сосудистой патологии у работающих во вредных условиях труда важное значение имеет оценка сердечно-сосудистого риска и выявление нарушений на ранних стадиях патологического процесса, значимым является анализ биомаркеров, связанных с патогенетическими механизмами влияния вредных производственных факторов на организм.

Воздействие свинца является одним из доказанных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Гипертензивные и проатеросклеротические эффекты свинца включают повышение сосудистого тонуса, развитие нарушений липидного обмена, эндотелиальной дисфункции, воспалительного процесса [3-10].

Лабораторные исследования в оценке риска развития сердечно-сосудистых заболеваний включают исследование биохимических маркеров (в том числе в составе предиктивных шкал) и молекулярно-генетических маркеров. Из биохимических показателей в оценке сердечно-сосудистого риска наиболее часто используются маркеры состояния липидного обмена, при этом, учитывая влияние свинца на обмен липидов [9, 10], значимым является включение в обследование работников при производственном контакте со свинцом дополнительных к определению общего холестерина показателей липидограммы.

Кроме показателей липидного обмена все больше исследований демонстрируют значимость оценки активности воспалительного процесса в прогнозировании сердечно-сосудистых событий, что особенно актуально при обследовании работающих в контакте с вредными производственными факторами, которые оказывают неблагоприятное воздействие на сердечно-сосудистую систему и потенцируют воспалительный процесс, к которым относится и свинец [8].

Для включения молекулярно-генетических маркеров в систему оценки сердечно-сосудистого риска в медицине труда значимым является как использование маркеров, ассоциированных с повышенным кардиориском в общей популяции, так и выделение дополнительных маркеров с учетом механизмов воздействия вредных производственных факторов на сердечно-сосудистую систему. Учитывая гипертензивные эффекты свинца [3-7], для выделения групп повышенного риска развития гипертонической болезни у работников при производственном контакте со свинцом актуальным представляется изучение полиморфизма генов белков, ассоциированных с повышенной абсорбцией свинца, [11-14] и белков ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), на которую воздействует свинец [7, 15].

Цель исследования: поиск информативных биохимических и молекулярно-генетических маркеров для включения в систему оценки сердечно-сосудистого риска у работающих в контакте со свинцом для оптимизации лечебно-профилактических мероприятий.

Методы. Одномоментное обсервационное исследование проведено на базе клиники ФГБНУ «НИИ МТ».

Основную группу составили 82 мужчины в возрасте от 30 до 66 лет (медиана возраста - 40,5 (36; 48) лет), работающие на предприятии по переработке свинецсодержащих изделий (преимущественно аккумуляторов) и проходившие периодический медицинский осмотр, со стажем 8 (4; 10) лет. Обследованные представлены лицами различных профессий, подвергающихся в процессе своей профессиональной деятельности воздействию свинца: 43,5% - плавильщики, 25,8% - слесари, 12,9% - мастера участка плавки и рафинирования свинца, 6,5% - машинисты крана, 4,8% - электромонтеры, по 3,2% - электрогазосварщики, мастера по ремонту металлургического оборудования. Содержание свинца в воздухе рабочей зоны составляло 0,055±0,01375 мг/м^3.

Для сравнения биохимических показателей сформирована подгруппа основной группы работников предприятия по вторичной переработке свинца (n=48) и мужчин, работающих вне контакта с вредными производственными факторами (n=30). Группы сопоставимы по возрасту (все обследованные в возрасте 30-49 лет) и по индексу массы тела.

Перечень проводимых лабораторных исследований включал:

- показатели экспозиции (свинец крови) и эффекта (δ-аминолевулиновая кислота мочи) при воздействии свинца и его соединений на организм – основная группа (n=82),

- показатели липидного обмена (холестерин, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП) – основная группа (n=62) и контрольная группа (n=30),

- воспалительные маркеры (ИЛ-6, ФНО-α) – основная группа (n=48) и контрольная группа (n=30),

- однонуклеотидные полиморфизмы генов, ассоциированных с повышенной абсорбцией свинца (HFE H63D (rs1799945), HFE C282Y (rs1800562), VDR (rs2228570)) – основная группа (n=82),

- полиморфные варианты генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (ACE Alu Ins/Del (rs1799752), REN –83G/A (rs2368564), AGT Thr174Met (rs4762)) – основная группа (n=82).

Уровень свинца в крови определяли на атомно-абсорбционном спектрометре AAnalyst 800, содержание δ-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в моче определяли по реакции образования пиррола с ацетилацетоном при нагревании и спектрофотометрировании окрашенного продукта реакции с реактивом Эрлиха. Уровни холестерина, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i с использованием наборов реагентов АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», уровни ИЛ-6, ФНО-α – методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов АО «Вектор-Бест». Выявление однонуклеотидных полиморфизмов и инсерции/делеции гена ACE проводилось методом полимеразной цепной реакции «в режиме реального времени» с использованием наборов реагентов компании ООО «НПФ Синтол».

Проведение исследования одобрено заключением локального комитета по этике ФГБНУ «НИИ МТ» (протокол № 5 от 02.08.2023 г.).

Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 10.0. Количественные данные представлены в виде медианы и квартилей: Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль. Наличие различий между группами по количественным данным определялось с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Анализ взаимосвязей между количественными переменными проводился на основании расчета непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r), между количественными и качественными переменными – на основании расчета непараметрического коэффициента корреляции гамма (γ). Различия по качественным признакам между группами оценивались на основе использования критерия хи-квадрат. Для оценки взаимосвязи между фактором риска и исходом рассчитывалось отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ).

Результаты. При сравнении биохимических показателей в обследованных группах выявлены более низкие уровни ХС ЛПВП в группе работников свинецперерабатывающего предприятия при отсутствии различий по уровням общего холестерина и ХС ЛПНП (таблица 1). Также у группы работающих в контакте со свинцом выявлены более высокие по сравнению с контрольной группой уровни провоспалительного цитокина ИЛ-6 (таблица), выявлена корреляция уровня ИЛ-6 с наличием гипертонической болезни (γ=0,386, p=0,009) у лиц основной группы.

Таблица 1. Уровни лабораторных показателей у обследованных групп

Показатель	Работники предприятия по вторичной переработке свинца (n=48)	Контрольная группа (n=30)	Уровень значимости
Холестерин, ммоль/л	5,1 (4,0; 5,8)	5,1 (4,5; 6,0)	p=0,353
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,97 (0,77; 1,18)	1,24 (1,14; 1,49)	p<0,001
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,31 (2,57; 3,94)	3,38 (2,73; 3,98)	p=0,751
ФНО-α, пг/мл	0,75 (0,1; 1,76)	1,01 (0,16; 2,36)	p=0,521
ИЛ-6, пг/мл	0,93 (0,1; 2,53)	0,1 (0,1; 1,0)	p=0,043

Показано наличие взаимосвязи со стажем работы на предприятии по переработке свинецсодержащих изделий уровня ХС ЛПВП (r= -0,343, p=0,006) (рисунок 1). Выявлена ассоциация уровня свинца в крови с наличием гипертонической болезни, диагностированной у 35% лиц основной группы (γ=0,508, p<0,001).

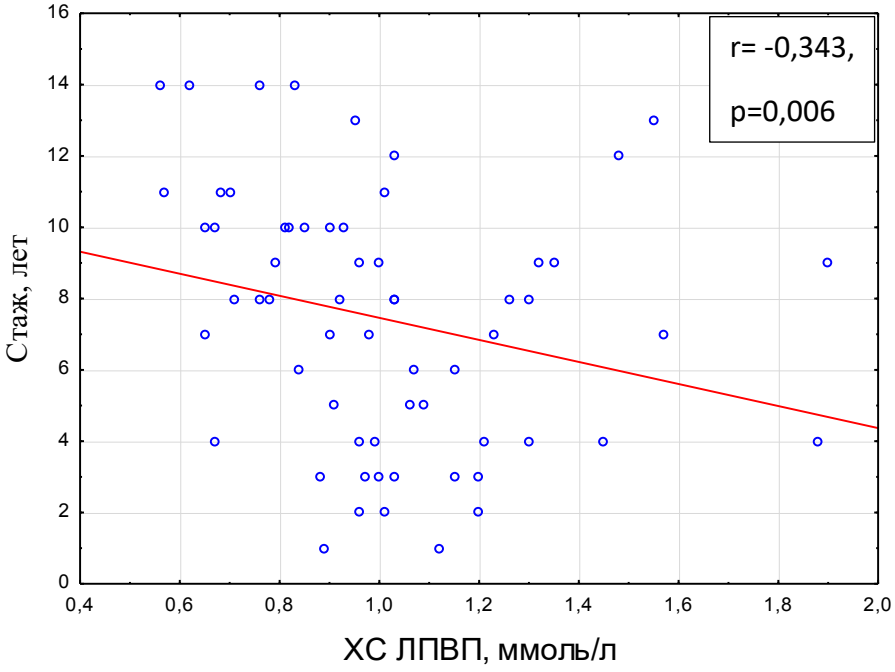


Рисунок 1.Взаимосвязь уровня ХС ЛПВП со стажем у работников предприятия по вторичной переработке свинца

При проведении анализа наличия ассоциаций изученных полиморфных вариантов генов с наличием гипертонической болезни (ГБ) у работающих в контакте со свинцом и его соединениями выявлена данная взаимосвязь для гена HFE-белка, регулирующего абсорбцию железа и влияющего на накопление в организме свинца, и гена ангиотензиногена (AGT), предшественника ангиотензина I: распространенность минорных аллелей гена HFE (rs1799945, rs1800562) и аллели T гена AGT (rs4762) достоверно (p<0,05) выше у лиц с ГБ по сравнению с

обследованными без ГБ (рисунок 2). По другим изученным молекулярно-генетическим маркерам ассоциации с ГБ не получено.

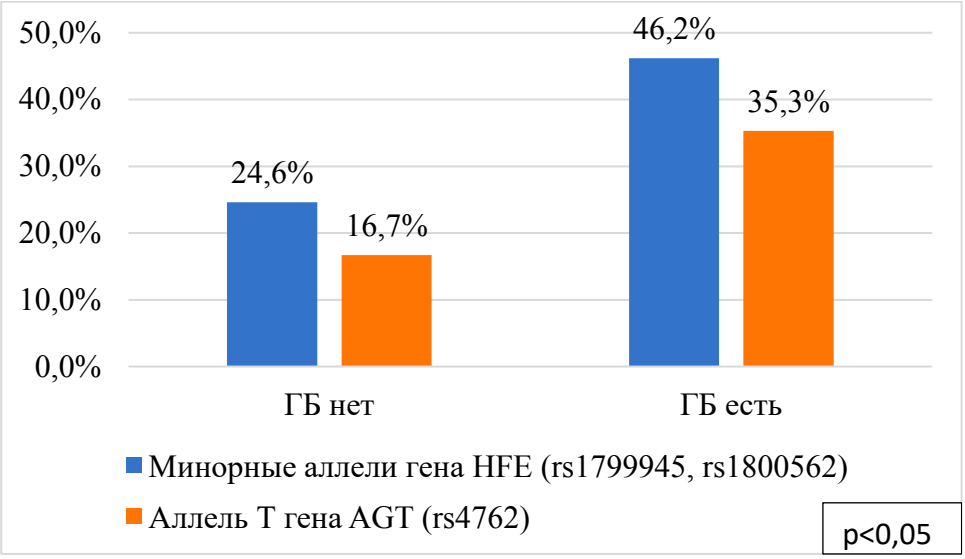


Рисунок 2. Частота минорных аллелей генов HFE, AGT у работающих свинецперерабатывающего предприятия в зависимости от наличия гипертонической болезни

Таким образом, с повышенным риском развития ГБ у работающих в контакте со свинцом и его соединениями ассоциированы наличие минорных аллелей гена HFE (rs1799945, rs1800562) (ОШ=2,622; 95% ДИ=1,018-6,750) и аллели Т гена AGT (rs4762) (ОШ=2,727; 95% ДИ=1,026-7,249).

Обсуждение. Проведенные исследования показали наличие различий по уровню ХС ЛПВП между работниками свинецперерабатывающего предприятия и контрольной группой, обратной корреляционной взаимосвязи между ХС ЛПВП и стажем работы, ассоциации уровня свинца в крови с наличием гипертонической болезни, что подтверждает влияние воздействия свинца на липидный обмен и артериальное давление, продемонстрированные в многочисленных исследованиях [3-10]. При этом из показателей липидного обмена выявлена зависимость с воздействием свинца только ХС ЛПВП, однако имеются данные об изменении при воздействии свинца уровня не только ЛПВП, но и ЛПНП [9, 10], что в данном исследовании не выявлено, в связи с чем для расширения лабораторного обследования работников свинецперерабатывающего предприятия можно рекомендовать исследование именно ХС ЛПВП.

Также у группы работающих в контакте со свинцом выявлены более высокие по сравнению с контрольной группой уровни провоспалительного цитокина ИЛ-6, что свидетельствует об активации воспалительного процесса при хроническом воздействии свинца, на что указывают и другие исследования [8]. Полученные данные о наличии ассоциации уровня ИЛ-6 с наличием гипертонической болезни у лиц основной группы согласовываются с данными

о роли ИЛ-6 в развитии сердечно-сосудистых заболеваний [16], что определяет значимость включения этого маркера в комплекс клинико-лабораторного обследования при производственном контакте со свинцом.

Полученные результаты подтверждают значимость использования молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных и с влиянием на механизмы развития сердечно-сосудистой патологии (AGT rs4762), и с накоплением свинца в организме (HFE rs1799945, rs1800562), для оценки индивидуального риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у работающих в контакте со свинцом. Имеются исследования, изучающие наличие взаимосвязей полиморфных вариантов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы с развитием артериальной гипертонии при контакте со свинцом [17, 18], однако они проведены в азиатской популяции, что может обусловливать различия по информативности маркеров. Также значимым представляется исследование этих показателей в комплексе с маркерами, ассоциированными с повышенной абсорбцией свинца, обладающего гипертензивным эффектом.

Исследование ограничено выборкой обследованных.

Заключение. По результатам проведенного исследования выделены информативные биохимические (ХС ЛПВП, ИЛ-6) и молекулярно-генетические (AGT (rs4762), HFE (rs1799945, rs1800562)) маркеры, которые могут быть рекомендованы к исследованию у работников свинецперерабатывающего предприятия для объективизации выделения групп высокого риска развития сердечно-сосудистой патологии с учетом имеющегося профессионального контакта со свинцом. Включение в комплекс профилактических мероприятий определения дополнительных клинико-лабораторных маркеров позволит оптимизировать лечебно-профилактические мероприятия с учетом индивидуальных особенностей метаболических процессов.

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания по НИР «Разработка комплекса клинико-лабораторных показателей для оценки риска развития и прогноза течения сердечно-сосудистой патологии у работающих в различных видах экономической деятельности для сохранения трудового долголетия».

Участие авторов: Хотулева А.Г. – концепция и дизайн исследования, набор материала, обработка данных, написание текста; Хохлова О.В. – набор материала, проведение исследований; Анохин Н.Н. – проведение исследований, обработка данных, редактирование текста.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Здравоохранение в России. 2023: Стат.сб./Росстат. – М., 2023. – 179 с.

2. Бухтияров И.В., Измеров Н.Ф., Прокопенко Л.В., Кузьмина Л.П. Формирование производственно-обусловленных заболеваний у работников, занятых в современных видах экономической деятельности // Актуальные проблемы безопасности и анализа риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания : Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием в 2-х томах, Пермь, 11–13 мая 2016 года / Под редакцией А.Ю. Поповой, Н.В. Зайцевой. Том I. – Пермь: Книжный формат, 2016. – С. 27-36.

3. Ахметзянова Э.Х., Бакиров А.Б. Роль свинца в формировании артериальной гипертензии (обзор литературы) // Мед. труда и пром. экол. – 2006. – №5. – С. 17-22.

4. Navas-Acien A., Guallar E., Silbergeld E.K., Rothenberg S.J. Lead exposure and cardiovascular disease--a systematic review // Environ Health Perspect. – 2007. – 115(3). – P. 472-482.

5. Vaziri N.D. Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2008. – 295(2). – P. H454-465.

6. Vassallo D.V., Simões M.R., Furieri L.B. et al. Toxic effects of mercury, lead and gadolinium on vascular reactivity // Braz J Med Biol Res. – 2011. – 44(9). – P. 939-946.

7. Jiao J., Wang M., Wang Y. et al. Lead exposure increases blood pressure by increasing angiotensinogen expression // J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. – 2016. – 51(5). – P. 434-439.

8. Prokopowicz A., Sobczak A., Szuła-Chraplewska M. et al. Effect of occupational exposure to lead on new risk factors for cardiovascular diseases // Occup Environ Med. – 2017. – 74(5). – P. 366-373.

9. Новикова М.А., Пушкарев Б.Г., Судаков Н.П. и др. Механизмы влияния свинцовой интоксикации на сердечно-сосудистую систему (сообщение 2) // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2013. – Т.119, № 4. – С.15-17.

10. Firoozichahak A., Rahimnejad S., Rahmani A. et al. Effect of occupational exposure to lead on serum levels of lipid profile and liver enzymes: An occupational cohort study // Toxicol Rep. – 2022. – № 2(9). – P. 269-275.

11. Onalaja A.O., Claudio L. Genetic Susceptibility to Lead Poisoning // Environ Health Perspect. – 2000. – Sup.1. – P. 23-28.

12. Боровкова Н.П., Макаров С.В., Кузьмина Л.П. и др. Дифференциальная восприимчивость к интоксикации ртутью и свинцом в зависимости от полиморфизма генов аполипопротеина Е (APOE), рецептора витамина Д (VDR) и параоксоназы 1 (PON1) при учёте клинико-биохимических показателей // Медицинская генетика. – 2012. – Т.11. – №3. – С. 26-32.

13. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Безрукавникова Л.М. Полиморфизм гена гемохроматоза как фактор риска развития свинцовой интоксикации // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. – № 9. – С. 103.

14. Mani M.S., Puranik A., Kabekkodu S.P. et al. Influence of VDR and HFE polymorphisms on blood lead levels of occupationally exposed workers // Hum Exp Toxicol. – 2021. – 40(6). – P. 897-914.

15. Wu Y., Wang M., Zhang J. et al. A new model of the mechanism underlying lead poisoning: SNP in miRNA target region influence the AGT expression level // Hereditas. – 156:6. [электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6348078/ (Дата обращения 22.01.2024).

16. Алиева А.М., Бутенко А.В., Теплова Н.В. и др. Роль интерлейкина-6 в развитии сердечно-сосудистых заболеваний // Consilium Medicum. – 2022. – №12. – С.882-887.

17. Kim H.K., Lee H., Kwon J.T., Kim H.J. A polymorphism in AGT and AGTR1 gene is associated with lead-related high blood pressure // J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. – 2015. – 16(4). – P. 712-719.

18. Kim H.J., Joo J., Lee S. et al. Association between angiotensin converting enzyme polymorphism and lead-related hypertensive status in lead-exposed male workers from Korea // Mol. Cell. Toxicol. – 2012. – 8. – P. 349–355.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Хотулева Анастасия Григорьевна, к.м.н. [Anastasia G. Khotuleva]; адрес: Россия, 105275, г. Москва, пр-т Буденного, 31 [address: 31, Budennogo Ave., Moscow, Russia, 105275]; телефон: +7(915)260-61-89; ORCID: 0000-0003-0359-1785; eLibrary SPIN: 8413-5425; e-mail: hotuleva_an@mail.ru.

Соавторы:

Хохлова Ольга Владимировна [Olga V. Khokhlova]; e-mail: floravasia@gmail.com; ORCID: 0009-0002-7325-6704.

Анохин Николай Николаевич [Nikolay N. Anokhin]; e-mail: anohinmt@mail.ru; ORCID: 0000-0002-9891-2790; eLibrary SPIN: 9546-8840.

ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ТРУДА, ТРАВМАТИЗМА, СЛУЧАЕВ РАННЕЙ СМЕРТИ И РАСПРОСТРАНЁННОСТИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ СРЕДИ РАБОТНИКОВ УГОЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

И.М. Цхомария[1,2], И.С. Варакута[1]

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», пр-т Буденного, 31, г. Москва, 105275;

[2]ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет), Большая Пироговская ул., 2, стр.4, Москва, 119435

Обоснование: В общую картину состояния здоровья и смертности работников угольной промышленности вносят не только профессиональные заболевания, но и производственный травматизм, случаи внезапной смерти, которые выявляются не в полном объеме. Также возможна существенная недооценка распространённости целого ряда профессиональных заболеваний с длительным латентным периодом (в первую злокачественных новообразований (ЗН) и пневмокониозов), которые могут развиваться уже после окончания профессиональной деятельности. В связи с этим важными являются исследования, посвященные изучению условий труда, а также распространённости злокачественных новообразований, травматизма и случаев внезапной смерти среди работников угольной промышленности, как один из первых этапов оценки рисков.

Цель исследования: Исследование условий труда работников угольной промышленности, изучение травматизма и случаев внезапной смерти среди них, а также распространённости потенциально связанных с профессией ЗН.

Материалы и методы: Проведены оценка условий труда с выявлением неблагоприятных факторов условий труда и трудового процесса, анализ травматизма и случаев внезапной смерти по данным Росуглепрофа, анкетирование 363 пациентов с диагнозом рака легких и 599 лиц популяционного контроля в Ростовской области.

Ограничение исследования: Исследование ограничено качеством ответов по профессиональному маршруту и факторам образа жизни со стороны респондентов при анкетировании.

Результаты: В 2020 году показатель смертельного травматизма при работе в подземных выработках был на 30% выше, чем в угольной отрасли, и в 4 раза превышал показатель по России в целом. За период 2020-2023 гг. на 5-6 случаев всех заболеваний, требующих экстренной медицинской помощи, приходится 1 случай смерти на рабочем месте. Анализ связи развития ЗН с профессией, где могут присутствовать профессиональные канцерогены, способствующие

развитию рака лёгких, методом «случай-контроль» показал, что отношение шансов обнаружения рака лёгких (OR) и 95% доверительные интервалы (ДИ) в группе работников угольной промышленности выше по сравнению с популяционным контролем (работниками других профессий) – OR = 1,229 (95% ДИ: 0,891-1,696), OR обнаружения рака легких у курящих работников угольной промышленности был выше по сравнению с некурящими – OR = 1,997 (95% ДИ: 0,792-5,036).

Заключение: Работники угольной промышленности подвержены воздействию различных вредных факторов, в том числе факторов образа жизни, ведущих к нарушению состояния их здоровья работника. Необходимо дальнейшие исследования их условий труда и здоровья.

Ключевые слова: работники угольной промышленности, профессиональные заболевания, внезапная смерть, условия труда.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ASSESSMENT OF WORKING CONDITIONS, INJURIES, EARLY DEATHS AND THE PREVALENCE OF OCCUPATIONAL CANCERS AMONG COAL INDUSTRY WORKERS

I.M. Tskhomariia[1,2], I.S. Varakuta[1]

[1]Federal State Budgetary Scientific Institution Izmerov Research Institute of Occupational Health, 31, Prospect Budennogo, Moscow, 105275

[2]Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 2-4 Bolshaya Pirogovskaya str. Moscow, Russian Federation

Background: Not only occupational diseases, but also occupational injuries and sudden deaths, which are not fully identified, contribute to the overall picture of the health and mortality of coal industry workers. It is also possible to significantly underestimate the prevalence of a number of occupational diseases with a long latent period (primarily malignant neoplasms and pneumoconiosis), which can develop after the end of professional activity. In this regard, it is important to study the working conditions, as well as the prevalence of malignant neoplasms, injuries and sudden deaths among coal industry workers, as one of the first stages of risk assessment.

Aims*:* To study of the working conditions of coal industry workers, to study of injuries and sudden deaths among them, as well as the prevalence of potentially occupational diseases.

Materials and methods: There were made the assessment of working conditions with the identification of adverse factors of working conditions and the labor process, an analysis of injuries and

sudden deaths according to Rosugleprof data, a survey of 363 patients diagnosed with lung cancer and 599 population controls in the Rostov region.

Limitation of the study: The study is limited by the quality of responses on the professional route and lifestyle factors from respondents in the survey.

Results: In 2020, the rate of fatal injuries while working in underground workings was 30% higher than in the coal industry, and 4 times higher than in Russia as a whole. For the period 2020-2023, 5-6 cases of all diseases requiring emergency medical care account for 1 death in the workplace. An analysis of the relationship between the development of lung cancer and a profession where occupational carcinogens contributing to the development of lung cancer may be present by the case-control study showed that the odds ratio of detecting lung cancer (OR) and 95% confidence intervals (CI) in the group of coal industry workers is higher compared with the population control (workers of other professions) – OR = 1.229 (95% CI: 0.891-1.696), OR the detection of lung cancer in smokers of coal industry workers was higher compared to non–smokers – OR = 1.997 (95% CI: 0.792-5.036).

Conclusions: Coal industry workers are exposed to various harmful factors, including lifestyle factors that lead to a violation of their employee's health status. Further research is needed on their working conditions and health.

Keywords: coal industry workers, occupational diseases, sudden death, working conditions.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Обоснование. Одним из главных приоритетов в сохранении здоровья населения Российской Федерации является увеличение ожидаемой продолжительности жизни, сокращение показателей смертности среди трудоспособного населения и продление трудового долголетия [1,2]. Важным механизмом достижения этих целей является создание эффективной системы оценки условий труда и внедрение передовых практик в области профилактики травматизма и профессиональных заболеваний [1,2].

Согласно Стратегии развития минерально-сырьевой базы до 2035 года уголь является одним из ключевых полезных ископаемых[1]. По данным Российского независимого профсоюза работников угольной промышленности (Росуглепрофа), на данный момент угольная промышленность представлена 54 шахтами и 126 разрезами.

Согласно данным официальной статистики, в 2022 году удельный вес численности работников, занятых на работах с вредными и/или опасными условиями труда (класс 3.1-3.4), в угольной отрасли составил 79,2%[2], в угольных шахтах этот показатель достигал более 91,4 %,

1Правительство Российской Федерации. Распоряжение от 22 декабря 2018 года N 2914-р Об утверждении Стратегии развития минерально-сырьевой базы Российской Федерации до 2035 года. URL: https://docs.cntd.ru/document/552051127?marker=6580IP

2 Официальный сайт Федеральной службы государственной статистики [сайт]. URL: https://rosstat.gov.ru/

что определяет высокий потенциальный риск развития профессиональной и производственно обусловленной патологии среди шахтёров [1].

Ведущее место в структуре профессиональной заболеваемости шахтёров угольной отрасли занимают радикулопатии – 27,0 %; нейросенсорная тугоухость – 22,9 %; вибрационная болезнь – 22,0 %; заболевания органов дыхания (профессиональный бронхит, пневмокониоз, ХОБЛ) – более 15,5 % [1]. Однако существенный вклад в общую картину состояния здоровья и смертности работников угольной промышленности играют не только профессиональные заболевания, но и производственный травматизм, случаи внезапной смерти, которые недостаточно выявляются.

Также мало изучена заболеваемость и смертность от профессиональных злокачественных новообразований. Общее бремя профессионального рака лёгких по оценкам МАИР составляет примерно 15% от всех случаев, и данная этиологическая доля указывает на то, что прекращение или минимизация воздействия профессиональных канцерогенов приведёт к снижению заболеваемости от ЗН этой локализации [3]. Работники угольной промышленности подвергаются воздействию целого ряда доказанных, а также вероятных канцерогенных факторов: угольная пыль, пыль, радиоактивные газы, металлы и т.д.[3]

В этой связи важным является исследование распространённости ЗН, травматизма и случаев внезапной смерти среди работников угольной промышленности, как один из первых этапов оценки рисков, а также оценка условий труда.

Цель исследования. Исследование условий труда работников угольной промышленности, изучение травматизма и случаев внезапной смерти среди них, и распространённости потенциально связанных с профессией ЗН.

Материалы и методы. Проведены оценка условий труда, анализ травматизма и случаев внезапной смерти по данным, предоставленным Росуглепрофом. Проведено анкетирование 363 пациентов с диагнозом рака легких и 599 лиц популяционного контроля в Ростовской области при помощи специально разработанной анкеты позволяющей получить данные о профессии (условии труда), факторах образа жизни (курение).

Результаты и обсуждения. Согласно данным Росуглепрофа, начиная с 2006 по 2023 год, среднесписочная численность работников на шахтах сократилась с 66,5 тыс. человек до 37,0 тыс. чел., а среднемесячная производительность труда работника на добыче угля в шахтах выросла, за тот же период, с 113 тонн до 196,8 тонн.

В целом, увеличение производительности связано с автоматизацией и механизацией производственных процессов на шахтах, данные свидетельствуют о тенденции к снижению

3 Monographs available – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. URL: https://monographs.iarc.who.int/monographs-available/

численности работников в угольных шахтах. Рост производительности труда является положительным фактором, указывающим на внедрение современных технологий и повышение эффективности производства.

Однако уровень профессиональной заболеваемости шахтёров в 150-200 раз превышает средний показатель по России [4].

На работника оказывает комплексное воздействие ряд неблагоприятных производственных факторов: вибрация, аэрозоли преимущественно фиброгенного действия (АПДФ), шум, замкнутое пространство, отсутствие солнечного света, повышенное барометрическое давление, гипогеомагнитное поле. Отдельно стоит учитывать, что глубина некоторых шахт может достигать более 1000 метров, а температура воздуха подниматься до +40ºС [5, 6]. В совокупности с характером труда воздействие вредных факторов ведет к напряжению различных функциональных систем организма человека, в дальнейшем, способствуя нарушению состояния здоровья работника.

Наиболее неблагоприятная ситуация наблюдается при авариях, связанных с взрывом метана и обвалом шахт, приводящая к массовым случаям смерти на рабочем месте. При добыче угля подземным способом происходит оседание горных пород, сопровождающееся выделением горючего газа, при смешении с воздухом эта смесь становится взрывоопасной. По данным Росуглепрофа, аварии на шахтах с количеством погибших более 10 человек с 2013 по 2023год зафиксированы в трех случаях. В результате погибло 106 шахтёров. Уровень смертельного травматизма в шахтах значительно выше (рис. 1), чем при открытых горных работах, что связано с более тяжелыми условиями труда и более сложным технологическим процессом. В 2020 году показатель смертельного травматизма в шахтах был на 30 % выше, чем в угольной отрасли в целом, и в 4 раза превышал показатель по России.

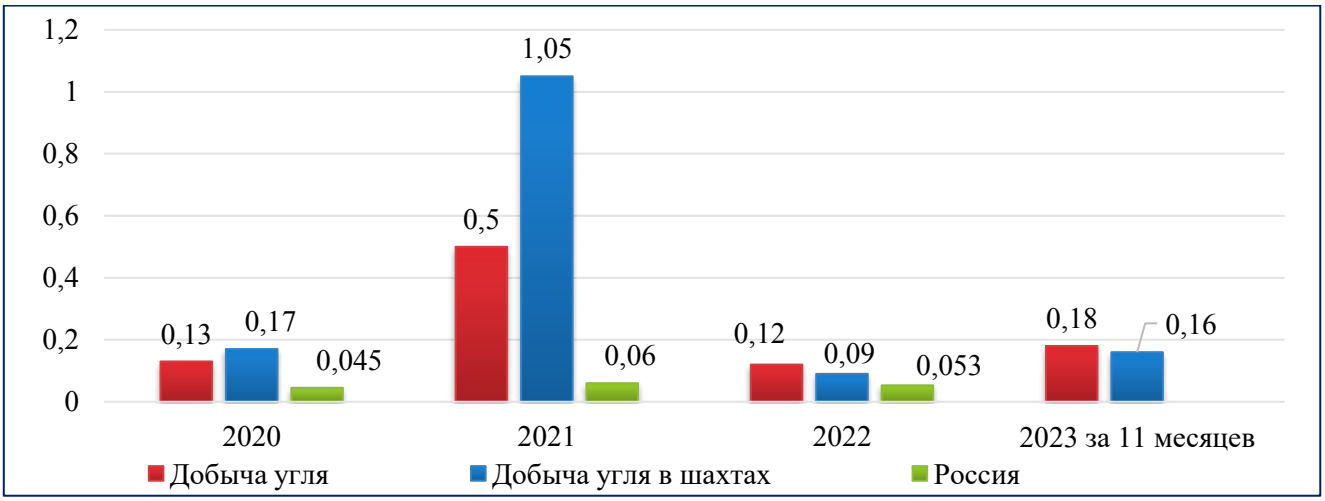


Рисунок 1. Показатель смертельного травматизма в расчете на1000 работников в отрасли добыча угля, добыча угля в шахтах и в среднем по России за 2020-2022 гг. и январь – ноябрь 2023 гг.

В среднем на 5-6 случаев всех заболеваний, требующих экстренной медицинской помощи, приходится 1 случай смерти на рабочем месте (рис. 2).

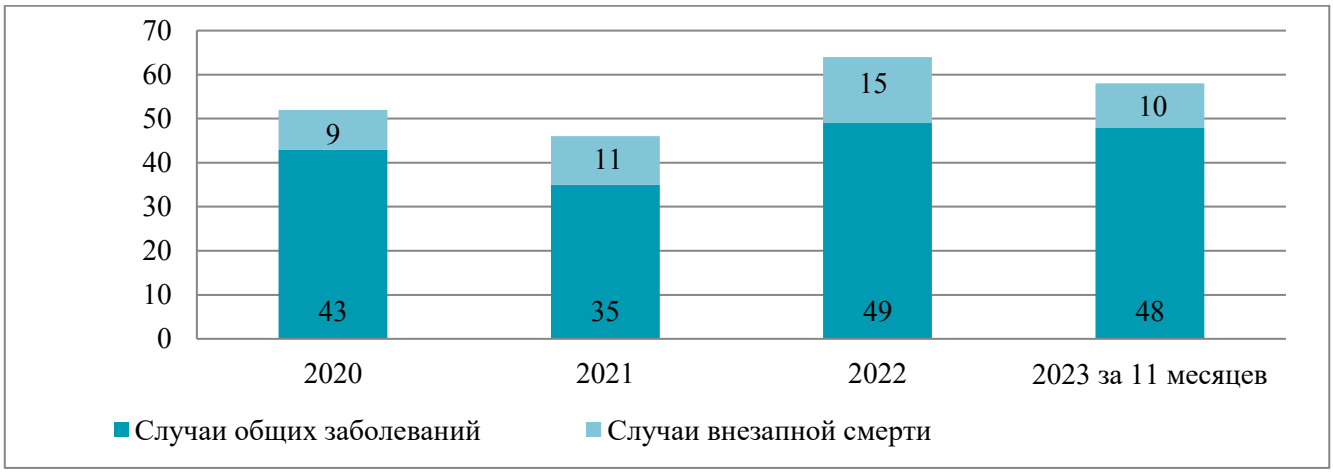


Рисунок 2. Случаи всех заболеваний, потребовавших оказание медицинской помощи на рабочем месте, и случаи внезапной смерти

По данным современных исследований, в развитие рака лёгких наиболее существенный вклад вносят профессиональные канцерогены [7, 8]. Одним из способов оценки последствий вероятного воздействия промышленных канцерогенов на работников является метод «случай-контроль», который позволяет получить определенные данные по распространенности потенциально связанных с профессией ЗН у работников угольной промышленности.

Сбор первичных данных реализовывался посредством анкетирования лиц с выявленными случаями рака лёгких и лиц, входящих в популяционный контроль, проживающих в населенных пунктах Ростовской области, где была широко представлена угольная промышленность.

Использовались специально разработанная в сотрудничестве со специалистами МАИР анкета, содержащая вопросы, касающиеся профессии и факторов образа жизни.

Количество заполненных анкет в группе «случай» (с впервые установленным диагнозом рака лёгких) и в группе «контроль» по населенным пунктам в территориальных образованиях Ростовской области представлено в таблице 1. Анкета направлялась в дальнейшую обработку только в случае наличия сведений о профессии, отношению к курению, наличии/отсутствии профессионального заболевания.

Таблица 1. Количество заполненных анкет в группе «случай» и группе «контроль»

Территория	Заполненных анкет, группа «случай»	Заполненных анкет, группа «контроль»
Аксайский р-н	16	29
Октябрьский р-н	18	26
г. Гуково	12	23
г. Новошахтинск	18	28
г. Ростов-на-Дону	242	347
г. Шахты	57	146
Всего	363	599

Также были получены данные по основным видам профессий и наличию профессиональных заболеваний. Работники часто объединялись в крупные группы в связи с невозможностью идентификации данных по анкете: водители различного транспорта, строительных профессий, сельского хозяйства, сферы услуг и т.д.

В группе «случай» основными профессиями среди работников угольной промышленности были ГРОЗ, проходчик, горный мастер, электрослесарь. Диагноз профессионального заболевания был установлен у 16 человек: у 4-х – антракосиликоз, у 8-и – пылевой обструктивный бронхит, еще 4 человека не указали точный профессиональный диагноз (не помнят). При этом 73 человека указали, что курили (таблица 2).

Таблица 2. Распределение работников угольной промышленности в группе «случай» в зависимости от фактора курения

Не курили	7
Всего курили	73
Не указали	7
Количество сигарет в день	
<5	7
6-15	15
16-25	35
26-35	6
36-45	3
Всего	80

В группу «контроль» вошли работники, проживающие на территории Ростовской области, идентичные по возрасту и полу в отношении случаев. Среди работников угольной промышленности установлен 51 диагноз профессионального заболевания. В 5 анкетах не указан точный диагноз. В 9 анкетах опрошенные лица указали диагноз силикоз/антракосиликоз, остальные 37 анкет были с диагнозами: обструктивный бронхит, хронический бронхит, двусторонний пылевой эндобронхит, ХОБЛ, которые для последующей обработки были объединены в одну общую группу – хронические обструктивные болезни легких. Наличие профессии, связанной с воздействием АПФД (угольной пыли и кристаллического диоксида кремния), делает возможным предположение, что все указанные в анкетах заболевания имеют профессиональную этиологию. Подавляющее большинство – 94 человека – указало, что курили или продолжают курить (таблица 3).

Таблица 3. Распределение работников в группе контроля в зависимости от фактора курения

Не курили	18
Всего курили	94
Не указали	6
Количество сигарет в день	
<5	9

6-15	31
16-25	40
26-35	6
36-45	2
Всего	112

Для выявления связи развития злокачественных новообразований с профессией методом «случай-контроль» был рассчитан показатель отношение шансов (OR) и 95% доверительные интервалы (ДИ) между группой работников угольной промышленности и другими профессиями. OR обнаружения рака лёгких был выше у работников угольной промышленности по сравнению с популяционным контролем и составил 1,229 (95% ДИ: 0,891-1,696), однако не достигал статистически значимой величины.

Курение является из главных факторов, способствующих риску развития рака лёгких, а при сочетанном воздействии с промышленными канцерогенами он существенно увеличивается. OR обнаружения рака легких у курящих работников угольной промышленности был выше, чем у некурящих, и составлял 1,997 (95% ДИ: 0,792-5,036), но также не достигал статистически значимой величины.

Заключение. Таким образом, несмотря на ограничения, способствующие снижению надёжности полученных данных, по результатам сравнительного анализа методом «случай–контроль» была выявлена тенденция повышения риска развития рака лёгких среди работников угольной промышленности по сравнению с остальными профессиям, а также тенденция повышения риска развития рака лёгких среди курящих работников угольной промышленности, но статистически незначимые. Выявлены существенные организационные и правовые ограничения в выполнении подобных исследований, что указывают на необходимость дальнейших эпидемиологических исследований в этом направлении на основе использования современных цифровых баз данных.

Анализ условий труда, а также статистических данных по заболеваемости и смертности работников угольной промышленности показывает высокие риски развития профессиональных заболеваний, травматизма и внезапной смерти на рабочем месте. Необходимо разрабатывать комплекс мер профилактики, способствующий снижению данных показателей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головкова Н.П., Кузьмина Л.П., Измерова Н.И., Лескина Л.М., Толмачёв Д.А., Варакута И.С., Лежнев Е.А., Соболев В.П.Приоритетные направления сохранения здоровья работников подземной добычи угля //Медицина труда и промышленная экология– 2023. – № 63(12).– С. 795–801.

2. Бухтияров И.В., Кузьмина Л.П., Головкова Н.П., Измерова Н.И., Лескина Л.М., Котова Н.И., Соболев В.П. Разработка комплекса приоритетных мер по интеграции инструментов оценки условий труда для формирования уровней профессиональных рисков // Медицина труда и промышленная экология– 2022. – № 62(9). –С. 558–565.

3. Олссон Э., Шубауер-Бериган М., Шюц Й. Стратегии Международного агентства по изучению рака по снижению бремени профессиональных злокачественных новообразований // Медицина труда и промышленная экология– 2022. – № 61(3). – С. 140–154.

4. Бухтияров И.В., Зибарев Е.В., Вострикова С.М., Кравченко О.К., Пиктушанская Т.Е., Кузнецова Е.А., Бессонова А.К. Современное состояние условий труда в угольных шахтах России // Медицина труда и промышленная экология–2023. – № 63(6). – С. 348–358.

5. Мартынов, А. А., Н. В. Малеев, А. К. Яковенко. Тепловой режим глубоких угольных шахт // Научно-практический и учебно-методический журнал– 2014. – № 3 (183). –С. 15-23.

6. Булгаков, Ю. Ф., Н. С. Почтаренко, А. М. Гущин. Проблема высоких температур в глубоких шахтах // Инновационные перспективы Донбасса, г. Донецк, 20-22 мая 2015 г. / Донецк: ДонНТУ, 2015. –Т. 1: Проблемы и перспективы в горном деле и строительстве.– 2015.–С. 153-157.

7. Серебряков, П. В. Использование оценки канцерогенного риска на горнорудных и металлургических предприятиях Заполярья // Гигиена и санитария– 2012. – №5. – С. 95–98.

8. Бабанов С.А., Будаш Д.С., Байкова А.Г., Рыжова Н.С. Профессиональные злокачественные новообразования легких и других локализаций и потенциально опасные производственные канцерогены // Consilium Medicum–2017.– № 19 (11). – С. 39–46.

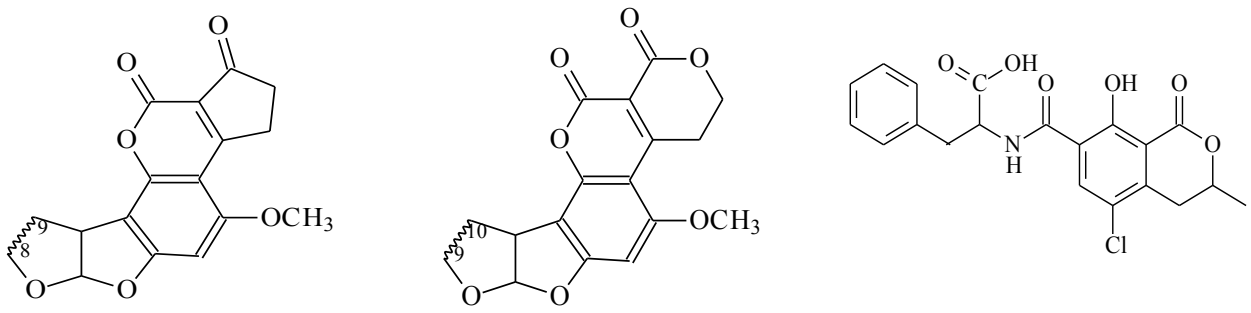
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АФЛАТОКСИНОВ И ОХРАТОКСИНА А В СПЕЦИЯХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ С ТАНДЕМНЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

З.А. Чалый, М.Г. Киселева, И.Б. Седова
ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва; Россия

Аннотация. Контроль микотоксинов в сельскохозяйственной продукции является ключевым фактором обеспечения безопасности пищевых продуктов. Афлатоксины (AFLs) и охратоксин А (OTA) являются наиболее опасными среди грибковых вторичных метаболитов. Специи, подверженные грибковому заражению, могут накапливать до нескольких мг/кг этих токсинов. Афлатоксины и охратоксин А представляют наибольшую опасность для здоровья из-за их высокой токсичности и наличия в традиционно используемых специях. В настоящее время в Российской Федерации эти токсины не подлежат регулированию в специях. Существует необходимость в чувствительной, точной и надежной аналитической процедуре для проведения исследований по оценке риска. Таким образом, целью настоящего исследования явилась разработка метода определения микотоксинов в перце *(Piper spp*.), имбире (*Zingiber officinale*), паприке и перце чили (*Capsicum spp*.) с помощью тандемной масс-спектрометрии с использованием жидкостной хроматографии (ЖХ-МС/МС) после очистки образца на иммуноаффинной колонке (ИАК). Разработанный метод обеспечивает возможность одновременного количественного определения афлатоксина B1 в диапазоне концентраций от 1 до 10 мкг/кг, афлатоксинов B2, G1, G2 - 1 - 15 мкг/кг и охратоксина А - 3 - 25 мкг/кг в паприке, чили, черном перце и имбире. Восстановление аналитов варьировалось от 75 до 88%. Метод был валидирован с использованием "чистой" матрицы и сертифицированных образцов FAPAS.

ВВЕДЕНИЕ

Специи используются для придания пище вкуса и цвета. Количество используемых специй и их виды зависят от региона и национальных традиций. Как и любой другой растительный товар, специи подвержены грибковому заражению. Вторичные метаболиты токсигенных грибов - микотоксины (МТ) - достаточно устойчивы, чтобы пережить процесс приготовления пищи [1]. Большинство пряностей происходят из стран с субтропическим и тропическим климатом. Условия их выращивания и первичной обработки благоприятны для контаминации этих товаров микромицетами рода Aspergillus и Penicillium и выработки токсинов. Афлатоксины B1, B2, G1, G2 (AFL B1, B2, G1, G2) и охратоксин А (OTA) (рис. 1) являются МТ, вызывающими приоритетную озабоченность в связи с их распространенностью и риском для здоровья [2-4].



AFL B_1: $–C_8=C_9–$ AFL G_1: $–C_9=C_{10}–$ OTA

AFL B_2: $–C_8–C_9–$ AFL G_2: $–C_9–C_{10}–$

Рисунок 1. Структура AFL B1, B2, G1, G2 and OTA

AFLs обладают гепатотоксическими, гепатоканцерогенными, мутагенными, тератогенными, иммуноподавляющими свойствами, влияют на свертываемость крови и являются мощнейшими канцерогенами [5]. Объединенный комитет экспертов по пищевым добавкам (JECFA) Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций и Всемирной организации здравоохранения (ФАО/ВОЗ) рекомендовал использовать принцип ALARA ("As Low As Reasonably Achievable") в отношении AFLs. То есть снизить потребление AFLs до такого низкого уровня, который достижим с учетом экономических, социальных и природных факторов. OTA является нейротоксином, потенциальным канцерогеном для человека (группа 2B) [6], мутагеном, тератогеном, нефротоксином, гепатотоксином и иммуносупрессором. OTA вызывает иммунодефицит, в литературе имеются сведения о генотоксичности [7, 8]. По данным JECFA максимально допустимое недельное потребление OTA составляет 112 нг/кг массы тела [9].

Паприка, чили и другие виды перца, мускатный орех и куркума относятся к наиболее загрязненным AFLs и OTA видам. Согласно данным, обобщенным Комитетом Кодекса по контаминантам в пищевых продуктах (Кодекс Алиментариус, ФАО/ВОЗ) в 2017 году, концентрация AFL B1 в сушеном чили и мускатном орехе составила 1,03 мг/кг, в паприке - 0,35 мг/кг; и до 0,3 мг/кг в образцах куркумы [2]. Максимальные концентрации OTA составили 2,15, 0,7 и 0,36 мг/кг в паприке, сушеном чили и мускатном орехе соответственно. По данным Zareshahrabadi et al., все протестированные образцы черного перца (n = 20) содержали 15,91-197,64 мкг/кг OTA [1]. Максимально допустимые уровни (МДУ) содержания AFLs и OTA в пищевых продуктах регулируются национальными органами здравоохранения. Около трети всех стран установили предельно допустимый уровень (ПДУ) для микотоксинов в специях. МДУ для OTA варьируются от 10 до 30 мкг/кг, МДУ для AFL B1 - от 2 до 30 мкг/кг, МДУ для суммы AFL - 4 - 30

мкг/кг [2,10]. Армения определила МДУ для зеараленона (1000 мкг/кг /кг) и Т-2 токсина (100 мкг/кг); Норвегия - МДУ для Т-2 токсина - 15 мкг/кг [2]. Многочисленные известные методы пробоподготовки не подходят для неоднородных матриц специй. Загрязнение, потенциально возникающее в различных точках цепочки производства и поставок, может представлять опасность для здоровья потребителей. Наиболее изученными микотоксинами в специях и травах являются микотоксины OTA и AFLs; для их анализа чаще всего используются методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предварительной очисткой на твердофазных и иммуноаффинных колонках (ИАК) [1, 11, 12]. Для определения широкого спектра токсинов в специях и травах использовали ВЭЖХ-МС/МС после очистки с помощью QuEChERS [12] или после разбавления ("dilute @ shoot") [13].

Целью настоящего исследования была разработка и валидация метода одновременного количественного определения AFLs и OTA в черном перце, перце чили, паприке и имбире с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления, соединенной с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) с иммуноаффинной очисткой образца.

Материалы и методы

Воду очищали с помощью системы Milli-Q (Millipore, США). Для приготовления стандартных растворов микотоксинов и подвижных фаз использовали муравьиную кислоту (чистую, 98+%, Acros organics, Германия), ацетат аммония (Panreac, AppliChem, Германия), щавелевую кислоту (99%, Спектр-Хим, Москва, Россия), метанол для ВЭЖХ (LiChrosolv, Merck, Германия) и ацетонитрил (Panreac, AppliChem, Германия). В качестве высаливающих добавок при пробоподготовке использовали хлорид натрия (99%, "Спектр-Хим", Москва, Россия).

Стандартные растворы МТ готовили из сухих стандартов AFL B1, B2, G1, G2, OTA (≥ 98%; Sigma-Aldrich). Индивидуальные исходные стандартные растворы готовили в ацетонитриле. Многокомпонентные исходные стандартные растворы готовились из индивидуальных и использовались для приготовления калибровочных растворов и "чистых" матричных навесок. Все стандартные растворы хранились в холодильнике при температуре -18 °C.

Материалы контроля качества FAPAS перца чили (лист данных - T04286QC), паприки (T04293QC), имбиря (T04349QC) были получены от компании Fera Science LTD. ИАК использовали для одновременного выделения AFL B1, B2, G1, G2 и OTA с токсиноемкостью не менее 10 нг для AFL B1, 15 нг для AFL B2, G1, G2 и 25 нг для OTA.

Определение МТ проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ-МС/МС в режиме электрораспылительной ионизации при атмосферном давлении в положительной полярности в режиме мониторинга выбранных переходов (табл. 1). Система ВЭЖХ (Vanquish UHPLC) состояла из бинарного градиентного насоса, печи для нагрева колонок, автодозатора и была соединена с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором с подогреваемым источником (TSQ Endura), управляемым программным обеспечением Xcalibur 4.0 QF2 (все Thermo Scientific, США). Оптимальные условия ВЭЖХ достигались с помощью колонки Agilent Zorbax SB-C18 (150×4,6 мм, 3,5 мкм) в режиме градиентного элюирования. Подвижные фазы: (А) вода-метанол (95-5, об.%); (В) метанол-вода (95-5, об.%), обе содержали 0,5 мМ щавелевой кислоты и 0,1% муравьиной кислоты. Градиентную программу устанавливали следующим образом: 0-2 мин: с 60% В, 2-5 мин:- линейное увеличение до 95% В, 5-9,5 мин - удержание при 95% В; 9,5-9,8 мин - линейное уменьшение до 60% В, 9,8-12 мин - уравновешивание при 60% В. Скорость потока составляла 0,4 мл/мин; температура колонки - 20 °С; объем ввода - 10 мкл.

Таблица 1. Параметры мониторинга множественных реакций для обнаружения AFL и OTA

МТ	Материнский ион, m/z		Дочерние ионы, m/z	Напряжение на фрагменторе, В	Энергия соударе-ния, В
AFL G2	[M+H]+	331	189; 245; 285	150	41; 30; 27
AFL G1	[M+H]+	329	243; 200; 311	150	26; 41; 21
AFL B2	[M+H]+	315	287; 259; 243	170	26; 29; 40
AFL B1	[M+H]+	313	285; 213; 241	166	22; 45; 37
OTA	[M+H]+	404	239; 358; 221	123	24; 14; 35
напряжение на капилляре 4000 В; температура источника – 330 ºС; температура ионной трубки – 225 ºС; давление небулайзера – 200 кПа; разрешение на Q1-0,7 FWHM, Q2-1,2 FWHM					

На этапе предварительного скрининга на загрязнение отбирались "чистые" матрицы, в которых содержание аналитов было либо меньше предела обнаружения, либо меньше нижней границы диапазона определяемых концентраций. В последнем случае усредненный аналитический сигнал трехкратных измерений "чистой" матрицы вычитался из сигнала искусственно загрязненных образцов. Восстановление и воспроизводимость оценивались на примере образцов черного перца, имбиря, чили и паприки с тремя уровнями загрязнения, которые были выбраны в соответствии с нормами ЕС.

Подготовка растворов для проверки: 100 мкл исходного смешанного стандартного раствора мультимикотоксинов на 5,0 г образца позволили получить уровни загрязнения, представленные в таблице 2. Точный объем смешанного стандартного раствора добавляли в каждую исследуемую порцию образца или пустую пробирку или мензурку в случае испытания на стабильность. Все эксперименты по восстановлению проводились в пяти повторностях.

Подготовка образцов проводилась в соответствии с [14] с некоторыми изменениями. 5,0 г однородного и тонко измельченного образца взвешивали в 50 мл соколиной пробирке, добавляли 20 мл дистиллированной воды. Пробирку встряхивали вручную или вихревым методом в течение 1 минуты и оставляли набухать на 10 минут, затем добавляли 2 г сухого хлорида натрия и 20 мл метанола. Экстракцию проводили в течение 30 минут: сначала на шейкере (10 минут), затем в ультразвуковой ванне (10 минут) и снова на шейкере (10 минут). Полученный экстракт центрифугировали в течение 3 минут при скорости не менее 4000 об/мин. 10 мл надосадочной жидкости переносили в чистую пробирку объемом 50 мл. Его разбавили 2 мл 20 мМ ацетата аммония, перемешали и центрифугировали в течение 5 минут при скорости не менее 7000 об/мин. Затем смесь разбавляли 10 мл и 28 мл 20 мМ раствора ацетата аммония, после чего проводили ультразвуковую обработку и центрифугирование. 40 из 50 мл полученного разбавленного экстракта наносили на колонку ИАК. Для обеспечения максимального извлечения скорость загрузки была сведена к минимуму и составляла около 0,4 мл/мин. Затем колонку промывали 5 мл 20 мМ раствора ацетата аммония - метанола (95/5, об.), pH 8,3, продували воздухом. Токсины элюировали 2 мл метанола, подкисленного уксусной кислотой (98/2, об.).

Результаты и обсуждение

Специи богаты коэкстрактивными веществами, такими как флавоноиды, фенольные кислоты, лигнаны, эфирные масла и алкалоиды [15], которые представляют собой проблему для прямого ЖХ-МС/МС обнаружения мкг/кг микотоксинов в сыром экстракте. Матрица образца влияет на электрораспыление, загрязняет источник ионов и хроматографическую колонку, изменяя аналитический сигнал и затрудняя количественный анализ. Высокая чувствительность, надежность и робастность являются основными целями при разработке любой аналитической процедуры. Октадецилсилика (ODS) с градиентным элюированием ACN или MeOH - распространенная и универсальная комбинация для анализа мультимикотоксинов методом ЖХ-МС/МС. Подвижная фаза обычно модифицируется муравьиной кислотой и формиатом аммония для обеспечения лучших условий для положительного ESI. Эксперименты показали увеличение чувствительности для некоторых микотоксинов или улучшение формы пиков при использовании метанола в качестве органического компонента [16]. Таким образом, стационарная фаза ODS в сочетании с

подкисленной и допированной щавелевой кислотой, и формиатом аммония водно-метанольной подвижной фазой оказалась наиболее подходящей для обнаружения микотоксинов в специях.

Пробоподготовке традиционно и обоснованно уделяется большое внимание, поскольку компоненты ЖХ и МС могут внести свой вклад или испортить все характеристики процедуры. Одним из наиболее распространенных методов селективного выделения аналитов из сложных матриц является использование иммуноаффинных сорбентов. Наши эксперименты показали, что аналиты подвергались сильному подавлению сигнала в образцах черного перца, приготовленных по методике dilute-and-shoot. Основным активным компонентом черного перца является алкалоид пиперин (C17H19NO3, MW 285,3), составляющий от 2 до 9 % плодов [17]. Он легко растворим в полярной органике, поэтому при пробоподготовке соэкстрагируется с микотоксинами. Подавление сигнала OTA достигает 90 %, а AFLs - до 30-50 %.

Чтобы избавиться от коэкстрактивных веществ, мы решили использовать иммуноаффинную очистку. Осаждение пиперина при разбавлении экстракта ацетатом аммония привело к снижению извлечения МТ на 50 %. Поэтапное разбавление образца с последующим ультразвуком и центрифугированием позволило добиться более чем 70-процентного извлечения.

Пример ВЭЖХ-МС/МС обнаружения AFLs и OTA в экстракте искусственно загрязненного образца имбиря (содержание AFL G2, G1 и B2 - 10 мкг / кг, AFL B1 - 5 мкг / кг, OTA - 15 мкг / кг) после ИАК-очистки приведен на рисунке 2.

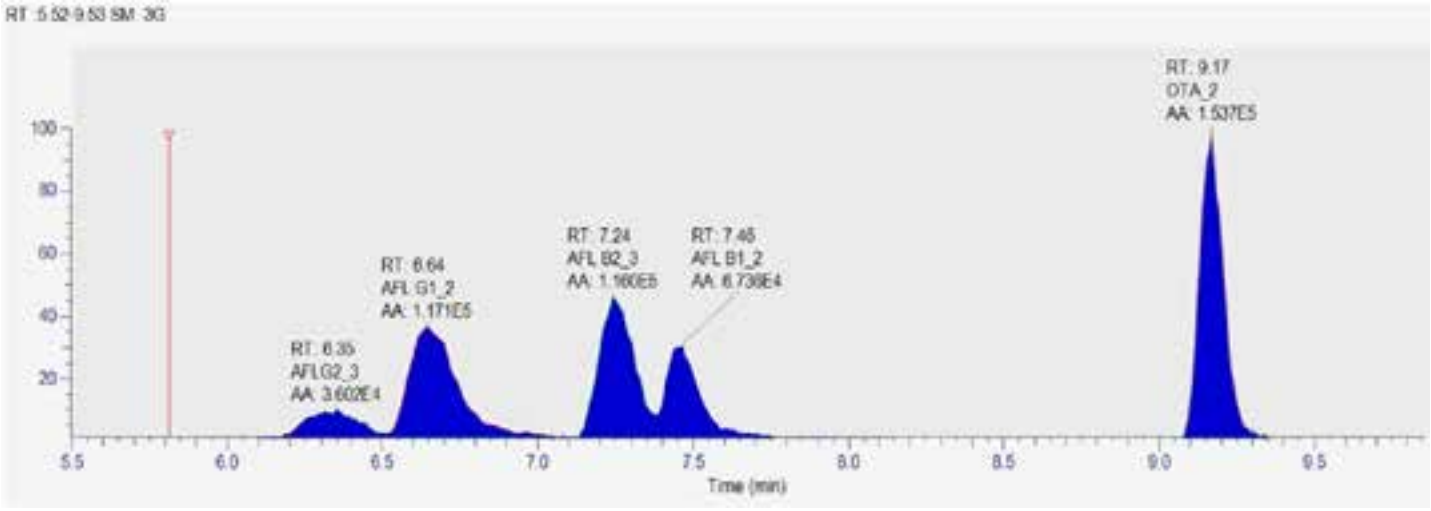


Рисунок 2. Хроматограмма образца имбиря с добавками. Концентрация AFL G2, G1 и B2 - по 10 мкг кг, AFL B1 - 5 мкг/кг, OTA - 15 мкг/кг

Основные характеристики метода валидации с использованием «чистых» матриц с добавлением добавок представлены в таблице 2.

Таблица 2. Метрологические характеристики методов анализа AFL B1, B2, G1, G2 и OTA в специях (n = 5)

МТ	Диапазон концентраций, мкг/кг	Неопределенность, +U,%	Относительное стандартное отклонение RSDR (воспроизводимость), RSDR,%	Относительное стандартное отклонение RSDR (повторяемость), RSDR, %	Извлечение, %
Черный перец					
AFL G2	1-15	60	9.0	12.6	75.4
AFL G1	1-15	58	7.3	10.2	76.3
AFL B2	1-15	60	7.0	9.8	75.4
AFL B1	1-10	56	9.3	13.1	77.7
OTA	3-25	54	10.9	15.2	78.6
Перец чили/Паприка					
AFL G2	1-15	58	7.3	10.2	75.5
AFL G1	1-15	35	14.9	20.9	88.2
AFL B2	1-15	47	9.4	13.1	81.3
AFL B1	1-10	56	6.9	9.7	76.5
OTA	3-25	49	8.4	11.7	80.3
Имбирь					
AFL G2	1-15	58	8.9	12.5	76.7
AFL G1	1-15	44	11.5	16.2	85.1
AFL B2	1-15	47	7.0	9.8	83.0
AFL B1	1-10	56	5.9	8.3	77.9
OTA	3-25	48	11.6	16.2	82.5

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о применимости данного метода для анализа AFL B1, B2, G1, G2 и OTA от 1 до 10 мкг/кг для AFL B1, от 1 до 15 мкг/кг для AFL B2, G1, G2 и от 3 до 25 мкг/кг для OTA в приоритетных специях (черный перец, чили/паприка, имбирь).

Заключение

Представленный метод позволяет количественно определять AFL B1, B2, G1, G2 и OTA в перце (*Piper spp*.), имбире (*Zingiber officinale*), паприке и чили (*Capsicum spp.*) в диапазоне от 1 до 10 мкг/кг для AFL B1, от 1 до 15 мкг/кг для AFL B2, G1, G2 и от 3 до 25 мкг/кг для OTA. Это позволяет исследовать данные токсины в специях, представленных на рынке Российской Федерации, и обеспечить их безопасность в соответствии с максимальными уровнями, установленными для этих микотоксинов в большинстве стран. Анализ данных о содержании AFL и OTA в специях может быть использован в качестве основы для формирования мнения о необходимости принятия законодательных актов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zareshahrabadi, Z., Bahmyari, R., Nouraei, H., Khodadadi, H., Mehryar, P., Asadian, F., & Zomorodian, K. Detection of aflatoxin and ochratoxin A in spices by high-performance liquid chromatography. Journal of Food Quality - 2020.P 1-8.
2. CX/CF 17/11/11 Discussion paper on the establishment maximum levels for mycotoxins in spices background. Eleventh session of codex committee on contaminants in foods. Brazil, Rio De Janeiro: 2017.
3. Ozbey, F., Kabak, B. Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices. Food Control - 2012.Vol. 28. No 2. P. 354-361.
4. Romagnoli, B., Menna, V., Gruppioni, N., & Bergamini, C. Aflatoxins in spices, aromatic herbs, herb-teas and medicinal plants marketed in Italy. Food control – 2007. Vol. 18 No 6. P. 697-701.
5. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: chemical agents and related occupations. A review of human carcinogens. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 100F – 2012. P. 224–248
6. IARC () Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 56- 1993. P. 1–599
7. Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville, R. A. (2012). An update on direct genotoxicity as a molecular mechanism of ochratoxin carcinogenicity. Chemical research in toxicology – 2012. Vol 25. No 2. P. 252-262.

8. Niaz, K., Shah, S. Z. A., Khan, F., Bule, M. (2020). Ochratoxin A–induced genotoxic and epigenetic mechanisms lead to Alzheimer disease: its modulation with strategies. Environmental Science and Pollution Research – 2020. Vol. 27. No 36. P. 44673-44700.
9. JECFA. Joint Food and Agricultural Organization/World Health Organization. (FAO/WHO) Expert Committee on Food Additives, 2007. – URL: http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-atabase/chemical.aspx?chemID¼1905
10. European Commission. 2006. Commission regulation (EC) no. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off J Eur Union L364:5–24(Text with EEA relevance)
11. Romagnoli, B., Menna, V., Gruppioni, N., & Bergamini, C. Aflatoxins in spices, aromatic herbs, herb-teas and medicinal plants marketed in Italy. Food control – 2007. Vol. 18 No 6. P. 697-701.
12. Motloung, L., De Saeger, S., De Boevre, M., Detavernier, C., Audenaert, K., Adebo, O. A., Njobeh, P. B. Study on mycotoxin contamination in South African food spices. World Mycotoxin Journal – 2018. Vol. 11 No 3. P. 401-409. DOI 10.3920/WMJ2017.2191
13. El Darra, N., Gambacorta, L., Solfrizzo, M. Multimycotoxins occurrence in spices and herbs commercialized in Lebanon. Food Control – 2019.Vol 95. P. 63-70.
14. Rhemrev, R., Pazdanska, M., Marley, E., Biselli, S., Staiger, S. Automated aflatoxin analysis using inline reusable immunoaffinity column cleanup and LC-fluorescence detection. Journal of AOAC International – 2015. Vol. 98 No 6. P. 1585-1590.
15. Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. Antioxidants – 2017. Vol. 6 No 3. P. 70.
16. Kokkonen M., University of Helsinki, Department of Food and Environmental Sciences: Helsinki University Print, Helsinki – 2011. P. 142.
17. Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., & Nikzad, M. (2017). Sequential microwave-ultrasound-assisted extraction for isolation of piperine from black pepper (Piper nigrum L.). Food and Bioprocess Technology – 2017. Vol. 10. P. 2199-2207.

АНАЛИЗ ЦЕЛОСТНОСТИ ДНК ПРИ ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ НОВОГО ВИДА

С.И. Шестакова

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Российская Федерация

Актуальность. Динамическое развитие сельского хозяйства и поступление на рынок пищевой продукции нового вида обусловливает возникновение новых рисков для здоровья населения. В соответствии с действующим законодательством ЕАЭС, пищевая продукция нового вида подлежит государственной регистрации на основании результатов исследований, подтверждающих безопасность этой продукции для потребителей. В действующей системе комплексной медико-биологической оценки безопасности пищевой продукции нового вида, наряду с общетоксикологическими исследованиями, важное место принадлежит изучению специфических видов токсичности, таких как генотоксичность, иммунотоксичность, аллергенность. Совершенствование системы оценки безопасности происходила на протяжении всего периода ее существования, одним из важнейших направлений которого являлся поиск новых биомаркеров, позволяющих повысить диагностическую ценность исследований. Среди перспективных биомаркеров, целесообразность использования которых в токсикологических экспериментах изучалось нами в течение длительного времени, особое место занимают показатели, характеризующие целостность структуры ДНК.

Целью настоящей работы являлось изучение оптимальных условий для использования показателей целостности ДНК, включающих уровень фрагментации ДНК и индекс апоптоза, при оценке безопасности пищевой продукции нового вида. Для достижения данной цели были решены следующие задачи: определены оптимальные для отбора материала этапы онтогенеза с 20-го дня пренатального развития по 140-й день жизни; определен диапазон физиологических колебаний целостности ДНК на фоне разной обеспеченности некоторыми витаминами и минеральными веществами; показатели целостности ДНК изучены в токсикологических экспериментах на моделях *in vivo* у крыс со сниженным адаптационным потенциалом.

Разработка плана исследований. План исследований по теме «Анализ целостности ДНК при оценке безопасности пищевой продукции нового вида» разработан с учетом имеющегося опыта в области исследований безопасности пищевой продукции нового вида с измененной первичной молекулярной структурой. Полученные результаты в дальнейшем будут интегрированы в систему оценки безопасности продуктов, полученных из нетрадиционных источников, например из насекомых, микроорганизмов, микроскопических грибов и водорослей.

Методы анализа. Подбор методов анализа для определения целостности ДНК в органах подопытных животных проведен в соответствии с дизайном токсикологических исследований.

Методы должны отличаться чувствительностью, надежностью, возможностью стандартизации и однозначной научной интерпретации. Принимая во внимание все вышеперечисленные требования, а также имеющуюся в ФГБНУ «ФИЦ питания и биотехнологии» приборную базу и существующий задел исследований по данному направлению был выбран метод гель-электрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет»).

Проведение экспериментальных исследований in vivo.

На первом этапе в эксперименте на крысах изучены показатели целостности ДНК в печени на разных этапах онтогенеза с целью определения оптимальных сроков отбора материала: поскольку общий дизайн комплексных исследований безопасности новых источников пищи включает работу с животными разного пола и возраста, начиная со стадии пренатального развития и заканчивая стадией половозрелого взрослого организма, отбор материала может быть проведен в достаточно широком возрастном диапазоне. Определение наиболее приемлемого для изучения апоптоза периода жизни крысы было необходимо для обоснованной интеграции биомаркеров целостности ДНК в схему оценки безопасности пищевой продукции нового вида. В рамках эксперимента были выполнены исследования на 169 самках и 169 самцах крыс линии Вистар разного возраста: на 20-й день пренатального развития и 2-й, 15-й, 30-й, 60-й, 90-й и 120-й,140-й дни постнатального развития [1-2]. Изменения степени повреждения ДНК в печени крыс обоего пола в зависимости от стадии онтогенетического развития демонстрировали высокий уровень повреждений на 20-й день пренатального развития, снижение на 35-80-й дни, повышение к 110 дню и снижение к 140-му дню онтогенеза.

Таким образом, принимая во внимание используемый в настоящее время дизайн токсикологических экспериментов при оценке безопасности пищевой продукции нового вида с измененной первичной молекулярной структурой [3-4] и сроки отбора материла для исследований на 20-й и 130-140-й дни онтогенеза (периоды, соответствующие самой высокой и низкой активности апоптоза), эти периоды с высокой степенью уверенности можно считать оптимальными для отбора образцов тканей с целью исследований повреждения ДНК [1-2].

На втором этапе была рассмотрена возможность использования показателей целостности ДНК в рамках алиментарного снижения адаптационного потенциала лабораторных животных, повышающего их чувствительность к токсическому воздействию и способствующего проявлению компенсированных скрытых патологических процессов. Дизайн эксперимента заключался в последовательном снижении содержания витаминов B1, B2, B3 и B6, солей Fe^{3+} и Mg^{2+} в составе солевой и витаминной смесей диеты AIN-93. Для этого были проведены эксперименты на крысах самцах линии Вистар, получавших рационы со 100%, 75%, 50%, 30%, 21%, 9%, 4% и 2%-ным содержанием эссенциальных веществ с 30-го по 94-й дни жизни. Результатом работы являлось установление диапазонов физиологических значений показателей

повреждения ДНК в зависимости от уровня обеспеченности эссенциальными веществами и формирование проекта протокола использования показателей целостности ДНК в рамках модели алиментарного снижения адаптационного потенциала крыс.

На третьем этапе были изучены показатели целостности ДНК в экспериментах с воздействием различных модельных токсикантов на фоне последовательного алиментарного снижения адаптационного потенциала крыс: в эксперименте на 90 самцах крыс линии Вистар, с 30-го по 94-й дни жизни получавших рационы с 75, 30 и 19%-ным содержанием витаминов группы В, солей железа и магния, на протяжении всего периода исследований получавших еженедельные внутрибрюшинные инъекции действующих доз CCl4; в хроническом 777-дневном эксперименте на 200 самцах крыс линии Вистар, получавших рационы со 100 и 25%-ной обеспеченностью водорастворимыми витаминами и подвергавшихся воздействию низких доз пестицидов.

В результате модельного эксперимента с CCl4 было выявлено выраженное повышение индекса апоптоза в зависимости от уровня обеспеченности нутриентами, значения индекса апоптоза у крыс контрольных групп с 75, 30 и 19%-ным содержанием эссенциальных веществ составляли 2.04, 2.26 и 5.97, соответственно. У животных опытных групп наблюдалась схожая динамика повышения индекса апоптоза на фоне снижения содержания витаминов и минеральных веществ, значения индекса апоптоза в опытных группах с 75, 30 и 19%-ным содержанием эссенциальных веществ составляли 4,68, 4,48 и 7,36, что на 129%, 98% и 23% выше, чем у соответствующих контрольных групп. У крыс фоновой группы, которые находились на аналогичных рационах с 75, 30 и 19%-ным содержанием эссенциальных веществ, но не получали инъекции, индекс апоптоза составлял 2,01, 1,67 и 1,58, соответственно. Установлено, что повышение индекса апоптоза на фоне интоксикации CCl4 в условиях снижающейся обеспеченности витаминами и минеральными веществами была более выражена у крыс, получавших рационы с 75%-ной обеспеченностью и менее выражены у групп, получавших рацион 19%-ным содержанием эссенциальных веществ. Результаты сравнения контрольных групп с фоновыми значениями индекса апоптоза, различавшихся только наличием/отсутствием внутрибрюшинных инъекций, позволяют предположить, что причиной нарушения целостности ДНК у животных всех контрольных групп, получавших инъекции физраствора, являлся стресс, действие которого включает как нервные, так и гуморальные механизмы регуляции. Таким образом, оптимальная обеспеченность животных витаминами и минеральными веществами является наиболее предпочтительной для использования показателей целостности ДНК в субхронических токсикологических экспериментах [5-6].

В рамках второго модельного эксперимента длительностью 777 дней отбор материала для исследований проводили на 184, 365 и 549-й дни жизни. Доза каждого из пестицидов в смеси не

превышала 1 ADI (Acceptable daily intake, рус. – Допустимая суточная доза). Результаты анализа данных продемонстрировали повышение индекса апоптоза в печени крыс на 549-й день эксперимента у крыс опытных групп по сравнению с контрольными: в опытной группе с 25% содержанием витаминов на 25% ($p>0,05$) выше, чем в соответствующей контрольной группе, в группе опытной группе со 100% содержанием витаминов – на 17% ($p>0,05$) выше. Следует отметить, что аналогичная тенденция повышения индекса апоптоза на фоне токсического воздействия прослеживалась и на предшествующих этапах эксперимента (184-, 356-й дни).

На основании полученных данных был сделан вывод, что в токсикологических экспериментах продолжительностью более 365 дней, показатели целостности ДНК целесообразно использовать на фоне низкой обеспеченности витаминами [7].

Разработка рекомендаций по использованию научно-методической модели оценки токсичности пищевой продукции нового вида.

На основе анализа полученных результатов были определены условия применения показателей целостности ДНК в экспериментах *in vivo*, позволяющие выявить минимальные токсические воздействия на организм [8]. Рекомендации по использованию показателей целостности ДНК будут интегрированы в протокол медико-биологических исследований пищевой продукции нового вида, полученной из нетрадиционных источников, в рамках процедуры ее государственной регистрации.

ЛИТЕРАТУРА

1) Жминченко В.М., Пашорина В.А., Садыкова Э.О., Шестакова С.И., Тимонин А.Н., Тышко Н.В Изменение активности апоптоза в органах крыс линии Вистар на разных этапах онтогенетического развития// Вопросы питания. – Т.84. –№ (3). –2015. С. 172 - 174.
http://reportnir.ru/upload/56869693b4e90.pdf

2) Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Шестакова С.И., Трушина Э.Н., Мустафина О.К. Изучение активности апоптоза в органах крыс на разных этапах онтогенеза// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2018. – Т. 166. № 9. – С. 388-391.

3) Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Тимонин А.Н., Шестакова С.И., Никитин Н.С., Требух М.Д., Запонова А.А., Логинова М.С. Многоуровневой экспериментальной модели in vivo для оценки безопасности ГМО, полученных с использованием новых биотехнологий// Вопросы питания. 2016. Том 85. № 2. С. 172-173

4) Shestakova S.I. Genotoxicological studies of novel food sources: alkaline comet assay// Toxicology Letters. – 2019. – Vol. 314, Suppl. 1. – P. 130-131.
https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002

5) Tyshko N.V. Shestakova S.I. Model of vitamin and mineral deficiency for toxicological research: apoptosis activity under conditions of CCl4 intoxication// Toxicology Reports – 2019. – Vol. 6. – P. 151-154.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018306504
https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.12.005
6) Shestakova S.I., Tyshko N.V. Apoptosis activity on the vitamin and mineral deficiency model under CCL4 intoxication // Toxicology Letters. 2018. P.17. [DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.06.561]
7) Тышко Н.В., Никитин Н.С., Шестакова С.И., Садыкова Э.О., Требух М.Д., Гусева Г.В., Трусов Н.В., Аксенов И.В., Голохваст К.С., Тсатсакис А., Тутельян В.А./ Системные биомаркеры и морфология печени крыс при хроническом введении малых доз токсикантов на фоне витаминной недостаточности// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2022 – Т.174. –№9.– С: 356-360
8) Шестакова С.И. Активность апоптоза при оценке безопасности новых пищевых продуктов микробного синтеза //Материалы V Школы молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний» с международным участием (Москва, 9- 11 ноября 2022 г.) – Москва, 2022. – С. 113-114

РОЛЬ ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ В ВЫЯВЛЕНИИ ДИСЛИПИДЕМИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПОВЫШЕННЫМ РИСКОМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ, У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

А. М. Шилов[1,2]

[1]ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

[2]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

Актуальность

Дислипидемия вносит значительный вклад в десятилетний риск сердечно-сосудистых событий среди людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), высокоприверженных антиретровирусной терапии (АРТ). Диспансерное наблюдение (ДН) таких пациентов является инструментом, позволяющим своевременно выявлять признаки нарушения липидного обмена и корректировать его.

Цель

Изучение роли диспансерного наблюдения в выявлении дислипидемии, ассоциированной с повышенным риском сердечно-сосудистых событий, у ЛЖВ.

Материалы и методы

Выполнен анализ данных, полученных по результатам плановых лабораторных исследований ЛЖВ в рамках ДН в ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора с 2022 по 2023 год. Изучены материалы медицинских карт 140 пациентов, которым выполнен биохимический анализ крови с липидограммой. Доля мужчин - 63,9%, женщин – 36,1%, средний возраст - 43,07±7,54 лет. Выполнена обработка частот выявления признаков дислипидемии, повышенного риска сердечно-сосудистых событий по шкалам SCORE-2 и SCORE-2-OP, проанализирована их связь с применяемыми схемами АРТ.

Результаты и обсуждение

У 79,3% обследованных выявлялись признаки дислипидемии: повышение общего холестерина – 37,9%, триглицеридов – 20,7%, липопротеинов низкой плотности – 65,7%, снижение липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) – 77,1%. Расчетный показатель не-ЛПВП, определяемый как разница между ЛПВП и суммой остальных фракций, был повышен у 41,4% пациентов. При расчете сердечно-сосудистого риска по шкалам SCORE-2 и SCORE-2-OP низкий риск был выявлен у 10,2%, средний – у 27,3%, высокий – у 62,5%. По результатам исследования распределения с применением критерия Пирсона установлено, что среди принимающих элсульфавирин достоверно чаще выявлялись повышение не-ЛПВП и высокий уровень риска по SCORE-2, чем в иных группах ($p < 0,01$).

Выводы

Диспансерное наблюдение ЛЖВ – важный метод выявления дислипидемии и повышенного сердечно-сосудистого риска. Настороженность в отношении сердечно-сосудистых событий требует применения оценочных шкал в рамках ДН, независимо от классов применяемых антиретровирусных препаратов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТРЕБНОСТИ ОКАЗАНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОМОЩИ СПОРТСМЕНАМИ-ЛЮБИТЕЛЯМИ

А.Д. Юрасова (Anna Dmitrievna Yurasova)

Научный руководитель: М.С. Черняева (Marina Sergeevna Chernyaeva)

Государственная Дума Российской Федерации приняла законопроект о любительском, массовом и корпоративном спорте. Что открывает широкие возможности вовлечения жителей России в спорт.

Задачей нашего исследования было оценить потребность в спортивных врачах у непрофессиональных спортсменов.

В России хорошо развита спортивная медицина для профессионального спорта, однако для любителей вопрос о доступе услуг спортивной медицины остается открытым. На сайте Московского научно-практического центра медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины ДЗМ [1] сказано, что «медицинские осмотры лиц старше 18 лет, с целью получения допуска к занятиям спортом и участию в спортивных соревнованиях, НЕ предусмотрены Территориальной программой государственных гарантий бесплатного оказания медицинской помощи и осуществляются за счет личных средств граждан, средств спортивных клубов и средств спортивных федераций (т.е. платно)». Не все любители знают о существовании спортивных диспансеров, в отличие от профессиональных спортсменов, которые ежегодно проходят там необходимые обследования и получают допуск к соревнованиям. В связи с этим остается вопрос о необходимости медицинской поддержки непрофессионального спорта.

В задачи спортивного врача входят первичные обследования лиц, занимающихся физкультурой и спортом, с определением допуска к занятиям физкультурой; повторные, которые определяют воздействие занятиями спорта на состояние организма, а также определение вопросов реабилитации и допуска спортсмена к тренировкам и соревнованиям после перенесенных заболеваний, травм и пр.

Российская спортивная медицина сегодня включает в себя много задач: контроль, реабилитацию, спортивную фармакологию, травматологию, физиотерапию, медико-биологическое обеспечение, психологию поддержание состояний в измененных физиологических условиях, таких как нахождение на высоте или на глубине. В ней работают специалисты различных направлений, таких как, например, спортивные ортопеды и хирурги, физиотерапевты, специалисты по кинезиотерапии, спортивные нутрициологи, мануальные терапевты, специалисты по физической подготовке и т. д. [2].

Наиболее выраженными мотивами занятия любительским спортом являются мотивы: эмоционального удовольствия, достижение успеха в спорте, физического самоутверждения и социально-эмоциональный мотив [3].

Рассмотрим травмы на примере такого вида спорта, как прыжки в воду.

Сейчас набирает популярность такое движение, называемое «Мастерс», туда приходят люди любого возраста, которые мечтают прыгнуть в воду, почувствовать ощущение полета.

Рекомендуемая Всемирной Организацией Здравоохранения нагрузка для занятий спортом составляет 150 минут в неделю (2,5 часа). Одна тренировка спортсменов-любителей в прыжках в воду в среднем длится 2 часа.

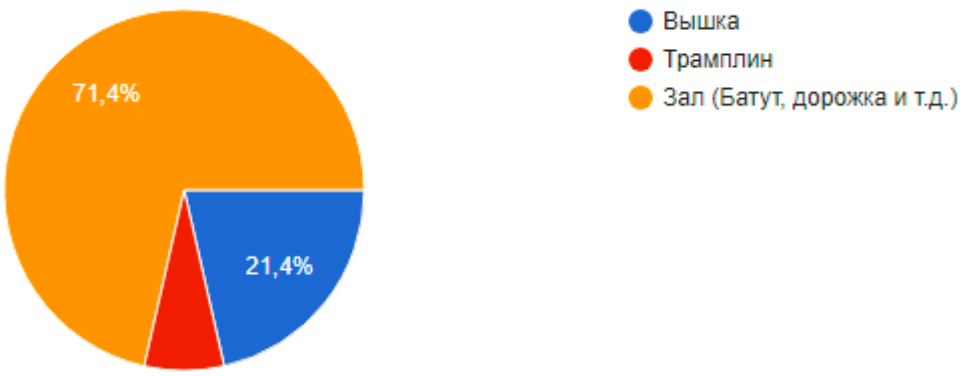
На соревнованиях любителей, так же, как и на любых соревнованиях, дежурит скорая медицинская помощь, готовая помочь спортсмену в любой момент времени, однако вероятность получение травмы на соревнованиях гораздо ниже, чем на тренировке.

В статье Е.А. Распоповой [4] рассматриваются травмы профессиональных спортсменов, что нам важно для понимания основных проблем, с которыми могут столкнуться любители.

Непрофессиональные спортсмены зачастую имеют неподготовленные мышцы для занятия тем или иным видом спорта, поэтому тренерам необходимо уделять время не только для занятия, но для качественной разминки, общей физической подготовки, а также технике исполнения.

В свою подготовку прыгуны в воду всегда включают гимнастические и акробатические упражнения, поэтому одной из причин получения травм становится выполнение акробатических заданий на батуте, дорожке и «сухом» трамплине. На старте спортсмен может передумать, испугаться прыжка, поэтому выполнение неполного элемента также является серьезной причиной спортивной травмы.

Какой, по Вашему мнению, наиболее травматичный снаряд?



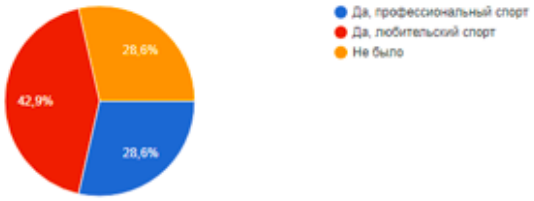
На начальном этапе тренировок в прыжках в воду очень важен грамотный вход, поэтому на первых занятиях люди учатся делать спады для правильного входа в воду. Многие спортсмены-любители до прихода в прыжки в воду занимались другими видами спорта, в том числе гимнастикой, акробатикой, борьбой и др.

Опираясь на статью Е.А.Распоповой [4] мы можем выделить типичные для этого вида спорта травмы, такие как травмы костей кисти, вывихи и подвывихи плечевого сустава, ушибы суставов, надрывы надостной мышцы и бицепса, травмы стопы, растяжения связок (стопы, паховых и т.д.), переломы костей стопы, травмы костей таза. Помимо травм, возможны болевые ощущения в области плечевого сустава, спины и лучезапястного сустава.

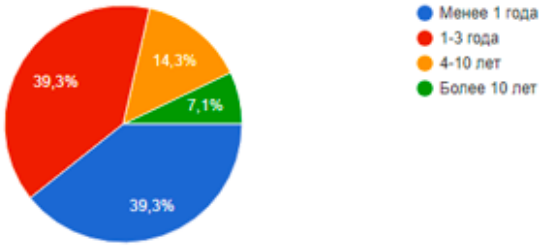
Нами был проведен опрос среди спортсменов-любителей и их тренерами о травмах любительского спорта.

Рассмотрим результаты опроса:

Был ли у Вас спортивный опыт до прихода в любительскую группу прыжков в воду?

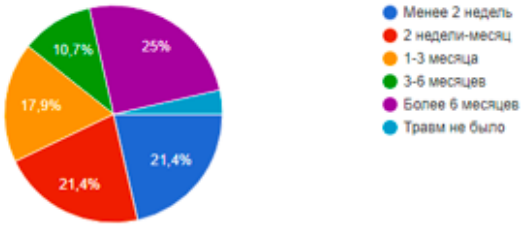


Как долго занимаетесь прыжками в воду?



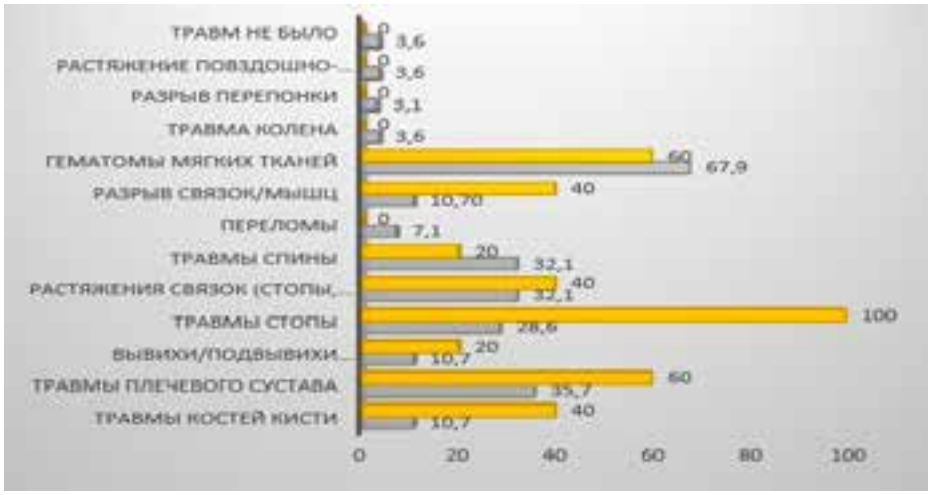
Обращались ли Вы к специалисту, врачу, травматологу?

Как долго шло восстановление?



На основании опроса среди любителей данного вида спорта было выявлено, что наиболее популярной травмой являются травмы плечевого сустава, травмы стопы, растяжение связок и гематомы мягких тканей, при этом многие из них обращались к специалисту, врачу или травматологу. Назывались еще и другие травмы, такие как: разрыв барабанной перепонки, растяжение подвздошно-поясничных мышц, синовит, травма колена, ушибы головы.

При опросе тренеров любительского спорта было выявлено, что травмы стопы, растяжение связок и гематомы мягких тканей часто встречаются у любителей.



На шкале серого цвета обозначены ответы любителей, а желтого – ответы тренеров. Серым цветом – любители, желтым - тренеры

В завершении опроса мы попросили дать рекомендацию по предотвращению и минимизации травм. Спортсмены посоветовали проводить тщательную и правильную разминку, четко соблюдать правила, рекомендации и инструкции тренеров, рационально распределять и рассчитывать свои силы во время тренировки, держать максимальную концентрацию, закачивать не только крупные группы мышц, но и малые, не торопиться усложнять элементы, быть внимательнее, грамотно входить в воду, быть аккуратнее в зале, не передумывать выполнять прыжки, соблюдать баланс между тренировками и отдыхом.

Тренеры отметили, что для того, чтобы любитель не получил спортивные травмы они уделяют достаточное время разминке, соблюдают индивидуальный подход в подборе заданий для разных уровней физической и технической подготовки, проводят «закачку», соблюдают

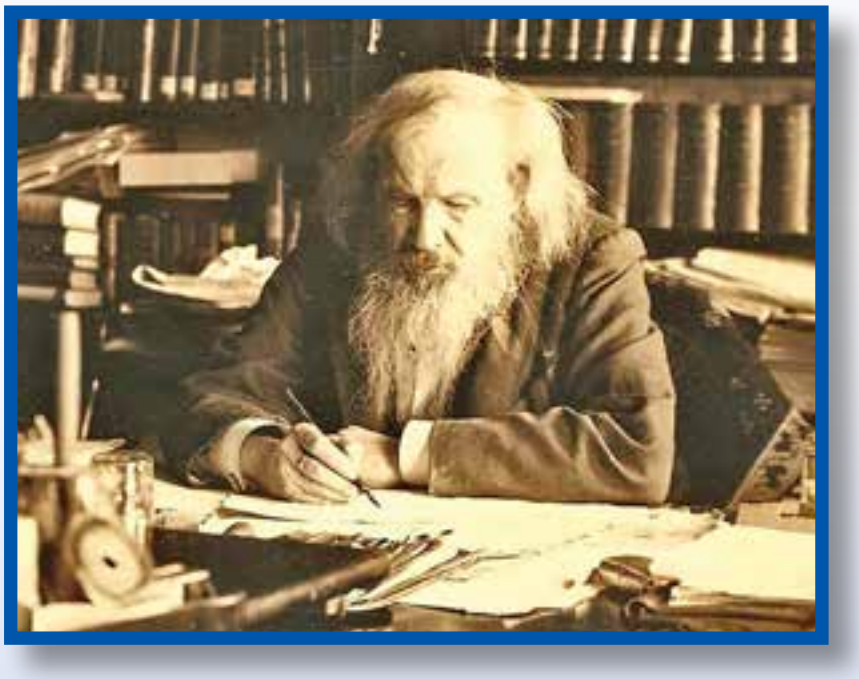
меры безопасности и говорят спортсмену выполнять новый прыжок только тогда, когда спортсмены готовы к этому физически и морально.

Таким образом, любительский спорт также полон травм и создание возможностей для более простой коммуникации спортивного врача и спортсмена-любителя массового спорта является требованием времени. Как неоднократно отмечалось специалистами, что иногда в районных поликлиниках нет спортивных врачей, а проблемы, которые могут возникнуть у непрофессиональных спортсменов не всегда могут решить травматологи-ортопеды, так как зачастую требуются отдельные компетенции по спортивной медицине, что не снижает потребности у массовых спортсменов, но создание отдельного направления в спортивной медицине будет все актуальнее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственное автономное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины Департамента здравоохранения города Москвы» действует на основании Устава, утвержденного приказом Департамента здравоохранения города Москвы от 25 мая 2018 года № 364 и изменения в Устав ГАУЗ МНПЦ МРВСМ ДЗМ, утвержденного приказом Департамента здравоохранения города Москвы от 20 апреля 2020 года №383
2. Бег //https://vk.com/wall-149725861_250856
3. Румянцева Н.В. Особенности мотивов спортивной деятельности спортсменов-любителей// Физическая культура. Спорт. Туризм. Двигательная рекреация. -2020.-Т.5, №4.-С. 107-112// https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-motivov-sportivnoy-deyatelnosti-sportsmenov-lyubiteley/viewer (URL: 30.01.2024)
4. Распопова Е.А. Заболеваемость и травматизм при занятиях прыжками в воду// Евразийский Союз Ученых — публикация научных статей в ежемесячном научном журнале. Педагогические науки, 2015// https://clck.ru/38Qd8r (URL: 30.01.2024)

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ



Менделеев Дмитрий Иванович (1834–1907)

«Знания без нравственности – меч в руках сумасшедшего»

УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ (УЗИ) СУСТАВОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ (РА): СРАВНЕНИЕ СУСТАВНЫХ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ СИСТЕМ СЧЕТА

О.Г. Алексеева, А.В. Смирнов, А.В. Волков, Е.Л. Насонов

O. Alekseeva, A. Smirnov, A. Volkov, E. Nasonov

ФГБНУ НИИР им В.А. Насоновой, Москва, Российская Федерация

Введение. Ультразвуковое исследование (УЗИ) суставов является достаточно объективным инструментом для оценки активности заболевания у пациентов с ревматоидным артритом (РА), однако на данный момент существует несколько систем счета, которые включают разный объем оцениваемых суставов.

Цель исследования: сравнить сокращенный 7-суставной и комплексный 46-суставной УЗ индекс у пациентов с РА.

Материал и методы. Включено 85 больных РА (средний возраст 53,0 [44,0; 61,0] лет, средняя продолжительность заболевания 8 [4; 24] месяцев).

Пациентам проводилась сокращенная (7-суставной УЗ индекс) и комплексная УЗ оценка (46-суставной УЗ индекс) суставных зон с оценкой синовита в режиме «серой шкалы» (СШ) и энергетического допплера (ЭД), а также деструктивных изменений (УЗ-эрозии).

7-суставной УЗ индекс включал суставные зоны запястья, 2,3 пястнофаланговые, 2,3 проксимальные межфаланговые, 2,5 плюснефаланговые суставы клинически доминирующей стороны. УЗ-оценка 46 суставов включала суставы, входящие в индекс DAS28, а также плюснефаланговые и тазобедренные. В режиме СШ и ЭД регистрация синовита осуществлялась на основании полуколичественной оценки в баллах от 0 до 3. В крупных суставах выраженность синовита оценивалась на основании выраженности растяжения суставной капсулы относительно костных ориентиров.

Результаты. Коэффициент корреляции между УЗ-показателями не показал различий между двумя системами счета. Были выявлены корреляционные связи как в сокращенной, так и в комплексной суставных системах счета всех УЗ-параметров с лабораторными показателями активности, комплексными индексами активности РА.

Не было выявлено различий УЗ-систем счета в группах с рентгенологическим прогрессированием на момент наблюдения и без него, однако были выявлены различия в группах с наличием активности по DAS28.

Выводы: в практическом применении актуально использование менее трудоемкого сокращенного 7-суставного УЗ индекса у пациентов с РА.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Н.С. Аллуш[1], Л.Р. Мухамеджанова[2]

[1]**Аллуш Наталия Сергеевна**, челюстно-лицевой хирург стоматологии ООО «Стоматология Ева Дент», ООО «Хирургический центр Майя Клиник», заочный аспирант 4 года подготовки кафедры терапевтической, детской стоматологии и ортодонтии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО (г. Казань); e-mail: allushstom@mail.ru, ORCID ID: 0009-0001-8934-9780

[2]**Мухамеджанова Любовь Рустемовна**, заведующий кафедрой терапевтической, детской стоматологии и ортодонтии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО (г. Казань), д.м.н., профессор; профессор кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» (г. Чебоксары), e-mail: lr71@bk.ru, ORCID ID: 0000-0003-0752-6497.

Аннотация. Пародонтит – наиболее распространенное воспалительное заболевание, которое приводит к разрушению поддерживающих тканей зуба. Терапевтическое лечение, направленное на снижение эффектов матриксных металлопротеиназ (ММП), может быть эффективным дополнением к лечению пародонтита. В аналитическом научном обзоре рассматривается роль ингибиторов протеолитических ферментов в лечении воспалительных заболеваний пародонта. Обсуждаются общие сведения о способности тетрациклинов ингибировать ММП.

Целью исследования явилось изучение литературных источников, посвященных применению ингибиторов ММП в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта.

Материал и методы исследования: осуществлен научный обзор исследований на русском и английском языках с использованием информационных порталов и платформ eLIBRARY.ru, Web of Science, PubMed и Scopus. Поиск осуществлялся по ключевым словам: матриксные металлопротеиназы; заболевания полости рта; тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Из 55 первоначально выявленных статей после первичного анализа были отобраны 19 публикаций, посвященных изучению ингибиторов ММП ассоциированных с заболеваниями пародонта.

Результаты исследования: анализ литературы позволяет сделать выводы, что устранение местных раздражающих факторов тканей пародонта, применение лечебно-

профилактического комплекса мероприятий с применением ингибиторов ММП будет иметь преимущество перед традиционными методами лечения, способствовать более длительной ремиссии и предотвращать прогрессирование воспалительного процесса в тканях пародонта, положительно влиять на его течение и сокращать сроки лечения. Применение ингибиторов металлопротеиназ является эффективной терапевтической стратегией в лечении заболеваний пародонта.

Выводы: терапевтический потенциал ингибиторов металлопротеиназ может помочь предотвратить повреждение тканей при воспалительных заболеваниях пародонта.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы, заболевания пародонта, внеклеточный матрикс.

THE USE OF METALLOPROTEINASE INHIBITORS IN THE COMPLEX TREATMENT OF INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES.

N.S. Allush[1], L.R. Mukhamedzhanova[2]

[1]Allush Natalia Sergeevna, maxillofacial surgeon of dentistry LLC "Dentistry Eva Dent", LLC "Maya Clinic Surgical Center", correspondence graduate student of 4 years of training at the Department of Therapeutic, Pediatric Dentistry and Orthodontics of the Kazan State Medical Academy – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution DPO RMANPO (Kazan); e-mail: allushstom@mail.ru , ORCID ID: 0009-0001-8934-9780.

[2]Lyubov Rustemovna Mukhamedzhanova, Head of the Department of Therapeutic, Pediatric Dentistry and Orthodontics of the Kazan State Medical Academy – branch of the FGBOU DPO RMANPO (Kazan), MD, Professor; Professor of the Department of Propaedeutics of Dental Diseases and New Technologies of the I.N. Ulyanov Chuvash State University (Cheboksary), e-mail: lr71@bk.ru, ORCID ID: orcid.org/0000-0003-0752-6497.

Annotation. Periodontitis is the most common inflammatory disease that leads to the destruction of the supporting tissues of the tooth. Therapeutic treatment aimed at reducing the effects of matrix metalloproteinases (MMPs) may be an effective complement to the treatment of periodontitis. The analytical scientific review examines the role of proteolytic enzyme inhibitors in the treatment of inflammatory periodontal diseases. General information on the ability of tetracyclines to inhibit MMP is discussed.

The aim of the study was to study the literature on the use of MMP inhibitors in the complex treatment of inflammatory periodontal diseases.

Material and research methods: A scientific review of studies was carried out in Russian and English using information portals and platforms eLIBRARY.ru, Web of Science, PubMed and Scopus. The search was carried out using the following keywords: matrix metalloproteinases; oral diseases; tissue inhibitors of metalloproteinases. Of the 55 initially identified articles, after the initial analysis, 19 publications devoted to the study of MMP inhibitors associated with periodontal diseases were selected.

The results of the study: an analysis of the literature allows us to conclude that the elimination of local irritating factors of periodontal tissues, the use of a therapeutic and preventive complex of measures using MMP inhibitors will have an advantage over traditional methods of treatment, promote longer remission and prevent the progression of the inflammatory process in periodontal tissues, positively influence its course and shorten the duration of treatment. The use of metalloproteinase inhibitors is an effective therapeutic strategy in the treatment of periodontal diseases.

Conclusions: the therapeutic potential of metalloproteinase inhibitors may help prevent tissue damage in inflammatory periodontal diseases.

Key words: matrix metalloproteinases, periodontal diseases, extracellular matrix.

Воспалительные заболевания пародонта являются одной из наиболее сложных проблем современной стоматологии, что объясняется ее многокомпонентностью, упорством течения, недостаточной эффективностью предлагаемых терапевтических средств и методов лечения.

Целью исследования явилось изучение литературных источников, посвященных применению ингибиторов ММП в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта.

Материал и методы исследования: осуществлен научный обзор исследований на русском и английском языках с использованием информационных порталов и платформ eLIBRARY.ru, Web of Science, PubMed и Scopus. Поиск осуществлялся по ключевым словам: матриксные металлопротеиназы; заболевания полости рта; тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Из 55 первоначально выявленных статей после первичного анализа были отобраны 19 публикаций, посвященных изучению ингибиторов ММП, ассоциированных с заболеваниями пародонта.

Основные методики лечения включают санацию полости рта, медикаментозную терапию, целью которой является устранение пародонтопатогенной микрофлоры и устранение воспаления в десне. Хирургическое лечение предусматривает устранение либо

значительное уменьшение глубины пародонтального кармана и реабилитационный этап, целью которого является восстановление жевательной функции зуба. На всех этапах курации пациента применяется комплекс лекарственных средств: антибиотики широкого спектра действия, нестероидные противовоспалительные препараты, витамины направленного действия, ингибиторы костной резорбции и препараты, способствующие реминерализации [14].

Основным этиологическим фактором, оказывающим механическое, химическое и биологическое действие, является зубная бляшка – скопление микроорганизмов, которое характеризуется постоянным и быстрым ростом и прочным прикреплением к тканям зубов и пародонта [5]. Активированные микроорганизмами моноциты и макрофаги выделяют спектр противовоспалительных цитокинов, сопровождающийся их дисбалансом. Каскад реакций вызывает деструкцию тканей пародонта, вследствие увеличения секреции цитокинов, простагландинов и лейкотриенов, увеличение секреции биологически активных веществ, участвующих в миграции лимфоцитов в очаг воспаления, пролиферации фибробластов, стимулирует образование матриксных металлопротеиназ и угнетает синтез их ингибиторов, активирует остеокласты [16].

В последние 25 лет появились существенные достижения в изучении патогенеза заболеваний пародонта [29]. И одним из таких достижений является открытие роли протеолитических ферментов в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта, что послужило толчком к изысканию новой группы лекарственных препаратов – ингибиторов протеаз [22].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) представляют собой большое семейство кальций-зависимых цинксодержащих эндопептидаз, которые отвечают за ремоделирование тканей и деградацию внеклеточного матрикса.

В 1962 г. Gross J. и Lapierre C. впервые была обнаружена металлопротеиназа. С тех пор было охарактеризовано более 20 ферментов этого семейства, а также подробно изучены их функции [1,3].

Семейство ММП насчитывает, по меньшей мере, 25 белков. ММП представляют собой высоко гомологичные многодоменные металлопротеиназы, содержащие Zn^{2+}, которые расщепляют различные белковые компоненты внеклеточного матрикса [8].

Описана многогранная роль ММП, ТИМП (тканевые ингибиторы металлопротеиназ) при некоторых заболеваниях посредством их клеточных функций, таких как протеолиз, деградация и ремоделирование внеклеточного матрикса. Нарушение регуляции ММП может оказать влияние на многие физиологические процессы, такие как морфогенез, ангиогенез, ремоделирование тканей, эмбриональное развитие, регуляцию

роста и гибели клеток и заживление ран [10, 25]. В большинстве типичных тканей взрослого человека ММП остаются на довольно низком уровне экспрессии, а баланс между ММП и ТИМП поддерживает равновесие внеклеточного матрикса [1]. Однако при воспалении экспрессия ММП увеличивается, вызывая дисбаланс уровней ММП и ТИМП [2, 23]. ММП способны разрушать все типы белков внеклеточного матрикса [7].

Продуцировать ММП способны нейтрофилы, моноциты, макрофаги, лимфоциты, тучные клетки, фибробласты, остеокласты, хондроциты, кератиноциты, эндотелиальные, эпителиальные и гладкомышечные клетки, а также клетки опухолей. Деградация компонентов внеклеточного матрикса обеспечивает ремоделирование ткани, поддержание ее архитектоники и гомеостаза, а также освобождает пространство для миграции клеток, что особенно важно для эмбриогенеза, имплантации эмбриона, роста и развития, ангиогенеза, заживления ран [15]. ММП тесно связаны с развитием и регуляцией воспаления посредством протеолитической регуляции воспалительных цитокинов и хемокинов [19].

Связь повышенной экспрессии ММП с заболеваниями различного генеза привела к интенсивным исследованиям по разработке ингибиторов ММП. Поскольку доказана роль ММП в патогенезе пародонтита, следовательно, необходимо воздействие, возможно фармакотерапевтическое, для минимизации или устранения их действия на воспаленные ткани [26].

Так, впервые для воздействия на ММП был применен тетрациклин [11, 19]. В настоящее время в клинической медицине ингибиторы металлопротеиназ используются для этиотропного лечения заболеваний пародонта [20]. Тетрациклины представляют собой антибиотики широкого спектра действия, которые могут хелатировать ион Zn^{2+} и тем самым ингибировать активность ММП.

Метронидазол — синтетическое производное нитроимидазола, тормозящее размножение бактерий. Это эффективное противомикробное средство, используемое против анаэробных бактерий и простейших. Назначается для медикаментозной поддержки традиционной пародонтальной терапии [6]. Результаты исследований показали, что метронидазол ингибирует продукцию IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12 и TNF-α цитокинов. Этот факт указывает на то, что метронидазол может помочь уменьшить скопление воспалительных клеток в пораженных участках, предотвращая деструкцию тканей пародонта, в том числе остеокласт-опосредованную резорбцию альвеолярной кости без цитотоксического действия на клетки пульпы и периодонтальных связок [24].

По данным исследований, ни один антибиотик не ингибирует все предполагаемые пародонтопатогены. Однако выбор одного антибиотика или комбинации антибиотиков

является спорным при лечении пародонтита. Ни один конкретный противомикробный препарат не показал статистически значимой эффективности над другим при использовании у пациентов с хроническим пародонтитом [28].

Действие тетрациклинов и их производных включает взаимодействие с ММП, тканевыми ингибиторами ММП, факторами роста и цитокинами. Они влияют на последовательность воспаления и, как следствие, на иммуномодуляцию, клеточную пролиферацию и ангиогенез. Химически модифицированные тетрациклины обладают противовоспалительным, антиапоптотическим, антипротеолитическим действием. Ограничение чрезмерной активности ММП особенно важно при агрессивных формах пародонтита. Эти свойства антибиотиков тетрациклинового ряда возможно использовать при лечении пациентов с пародонтитом, у которых встречаются сопутствующие заболевания [32].

Тетрациклины (а также периостат, известный как доксициклин) – полусинтетические соединения, которые помимо антибактериальной активности могут остановить разрушение внеклеточного матрикса при заболеваниях рта, хроническом риносинусите, миокардите [21]. Доксициклин был разрешён FDA в 1998 г., и до сих пор остаётся единственным зарегистрированным ингибитором ММП-9 [3]. Ингибирование ММП тетрациклинами происходит главным образом за счет экспрессии соответствующего гена. Механизм действия тетрациклина заключается в следующем: он ингибирует синтез белка, блокируя прикрепление заряженных мРНК и рРНК к Р-участку пептидной цепи. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов: Staphylococcus spp. (в т.ч. Staphylococcus aureus, включая штаммы, продуцирующие пенициллиназу), Streptococcus pneumoniae, Listeria spp., Bacillus anthracis, Clostridium spp., Actinomyces israelii; грамотрицательных микроорганизмов: Haemophilus influenzae, Haemophilus ducreyi, Bordetella pertussis, Escherichia coli, Enterobacter spp. (включая Enterobacter aerogenes), Acinetobacter spp., Klebsiella spp., Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia pestis, Francisella tularensis, Bartonella bacilliformis, Vibrio cholerae, Vibrio fetus, Rickettsia spp, Brucella spp. (в комбинации со стрептомицином); в случае противопоказаний к применению препаратов группы пенициллинов - Clostridium spp., Neisseria gonorrhoeae, Actinomyces spp; активен также в отношении Calymmatobacterium granulomatis, Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci, Mycoplasma pneumoniae, Treponema spp., Entamoeba spp.

Исследования на экспериментальных животных показали, что ингибиторы ММП могут быть эффективны в предотвращении развития и прогрессирования заболевания на ранних стадиях, но могут иметь незначительный эффект на поздних стадиях заболевания.

Продолжается дальнейшая разработка более селективных ММП для пародонтологического лечения (с целью уменьшения потенциальных побочных эффектов) путем изучения подходов к комбинированной терапии, учитывающих целевые антимикробные препараты и реакцию организма. В фармакологии идет постоянный поиск новых соединений, оригинальных по строению и фармакологическому эффекту [4]. Таким методом может стать и применение ингибиторов ММП, которые явно обладают потенциалом для применения в комплексном лечении заболеваний пародонта.

Существует класс препаратов, которые избирательно воздействуют на протеиназы. Одним из представителей этого класса препаратов является апротинин. Данный препарат используется в медицине для контроля кровотечений во время хирургических вмешательств [18, 31]. Он специфически блокирует протеазы, такие как трипсин, химотрипсин и плазмин, которые играют роль в разрушении фибриновых сгустков и образовании тромбов. История разработки апротинина началась в 1954 году, когда немецкий исследователь Герберт Браун и его коллеги начали исследования по изучению механизмов свертывания крови и поиску новых препаратов против фибринолиза. Они обратили внимание на плазминоген – предшественник плазмина, фермента, отвечающего за разрушение свертывающих фибриновых коагулов.

В ходе исследования было обнаружено, что в некоторых организмах существует природный ингибитор плазмина, который препятствует его активации. Исследователи смогли выделить этот ингибитор и дали ему название апротинин. В 1963 году препарат начали использовать в медицинской практике как противовоспалительный и антифибринолитический препарат. Он стал широко применяться в кардиохирургии для предотвращения кровотечений и улучшения результатов операций. В последующие годы были проведены многочисленные исследования, подтвердившие эффективность апротинина и его безопасность в использовании. Препарат был зарегистрирован во многих странах, в том числе и в России, и его использование стало стандартной практикой в кардиохирургии [13].

Апротинин подавляет действие протеолитичеких ферментов, что приводит к снижению фибринолизирующей активности плазмы и ингибиции активации каскада реакций гемокоагуляции [30]. Это позволяет предотвратить гиперфибринолиз и снизить риск кровотечений [9, 17].

Кроме того, апротинин обладает противовоспалительным эффектом, который проявляется в снижении синтеза противовоспалительных цитокинов и факторов некроза опухоли, а также в уменьшении активности воспалительных медиаторов [12, 27].

Также стоит отметить, что апротинин обладает противоаллергическим эффектом, который проявляется в снижении выделения гистамина и других медиаторов аллергической реакции.

Способность апротинина уменьшать симптомы воспаления, улучшать микроциркуляцию, заживлять послеоперационные раны и положительно влиять на гемодинамику делает его альтернативой дексаметазону при лечении боли и отека. Все вышеизложенное служит основой для более широкого применения апротинина в практике стоматолога при лечении пародонтита.

Заключение

Анализ литературы позволяет сделать выводы, что при отсутствии общесоматических заболеваний устранение местных раздражающих факторов для пародонта, соблюдение рациональной гигиены рта, проведение профессиональной гигиены и применение лечебно-профилактического комплекса мероприятий с применением ингибиторов ММП будет иметь преимущество перед традиционными методами лечения, способствовать длительной ремиссии и предотвращать прогрессирование воспалительного процесса в пародонте, положительно влиять на его течение и сокращать сроки лечения. Применение ингибиторов металлопротеиназ является эффективной терапевтической стратегией в лечении заболеваний пародонта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдугаффаров С.О.У., Рахимжонов С.С.У., Бобокулов А.У.У., Акромов А.Р.У. Роль матриксных металлопротеиназ в организме человека. Eurasia Science: сборник статей XXXI международной научно-практической конференции. Москва. 2020:55-57. [Abdugaffarov S.O.U., Rakhimzhonov S.S.U., Bobokulov A.U.U., Akromov A.R.U. The role of matrix metalloproteinases in the human body. Eurasia Science: collection of articles of the XXXI international scientific and practical conference. Moscow. 2020:55-57. (In Russ.)].

2. Бакумова А.П., Рогова Л.Н. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах зубочелюстной области. Стоматология - наука и практика, перспективы развития: материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 55-летию стоматологического факультета ВолгГМУ. Волгоград. 2017:33-36. [Bakumova A.P., Rogova L.N. Matrix metalloproteinases, their role in physiological and pathological processes in the dentofacial area. Dentistry - science and practice, development prospects: materials of the anniversary scientific and practical conference dedicated to the 55th

anniversary of the Faculty of Dentistry of Volgograd State Medical University. Volgograd. 2017:33-36. (In Russ.)].

3. Григоркевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы. Фармакокинетика и Фармакодинамика. 2019; (2):3-16. [Grigorkevich O.S., Mokrov G.V., Kosova L.Yu. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. 2019; (2):3-16. (In Russ.)]. doi https://doi.org/10.24411/2587-7836-2019-10040

4. Давыдов Б.Н., Доменюк Д.А., Кочконян Т.С. Анализ профиля системы матриксных металлопротеиназ и их эндогенных ингибиторов у детей с заболеваниями пародонта и различными диспластическими фенотипами. Пародонтология. 2023; 8 (4):323-335. [Davydov B.N., Domenyuk D.A., Kochkonyan T.S. Analysis of the profile of the matrix metalloproteinase system and their endogenous inhibitors in children with periodontal diseases and various dysplastic phenotypes. Periodontology. 2023; 8 (4):323-335. (In Russ.)]. https://doi.org/10.33925/1683-3759-2023-814

5. Дзампаева Ж.В. Особенности этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Кубанский научный медицинский вестник. 2017; 5:103-110. [Dzampaeva Zh.V. Features of the etiology and pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2017; 5:103-110. (In Russ.)]. doi: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-5- 103-110.

6. Заливская А.В., Жилякова Е.Т. Анализ основ стоматологических гелей для лечения гингивита. Научные результаты биомедицинских исследований. 2016; 2(1):53-58. [Zalivskaya A.V., Zhilyakova E.T. Analysis of the fundamentals of dental gels for the treatment of gingivitis. Scientific results of biomedical research. 2016; 2(1):53-58. (In Russ.)]. doi 10.18413/2313-8955-2016-2-1-53-58

7. Казеко Л.А., Бенеш Ю.Д., Захарова В.А. Особенности экспрессии тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ в биоптатах здоровой слизистой оболочки полости рта. Global Science and Innovations: Central Asia. 2021; 2(12):133-135. [Kazeko L.A., Benesh Yu.D., Zakharova V.A. Features of the expression of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in biopsy samples of healthy oral mucosa. Global Science and Innovations: Central Asia. 2021; 2(12):133-135. (In Russ.)].

8. Кандыба А.А., ГрищенкоВ.И., Храмцова К.А. Матриксные металлопротеиназы. Студент года 2021: сборник статей XVII Международного научно-исследовательского конкурса. Пенза. 2021:130-132. [Kandyba A.A., Grishchenko V.I., Khramtsova K.A. Matrix metalloproteinases. Student of the Year 2021: collection of articles from the XVII International Research Competition. Penza. 2021:130-132. (In Russ.)].

9. Карахалис Н.Б., Карахалис М.Н. Факторы риска тромботических осложнений и антитромботическая терапия кардиохирургических пациентов детского возраста. Acta Biomedica Scientifica. 2021; 6(2):81-91. [Karahalis N.B., Karahalis M.N. Risk factors for thrombotic complications and antithrombotic therapy in pediatric cardiac surgical patients. Acta Biomedica Scientifica. 2021; 6(2):81-91. (In Russ.)]. doi 10.29413/ABS.2021-6.2.9.

10. Марданов А.Э. Диагностическое значение анализа матриксных металлопротеиназ у детей с расщелиной губы и неба: автореферат диссертации кандидата медицинских наук: специальность 14.01.14 / Марданов Аяз Эльханович. Москва, 2018:24 с. [Mardanov A.E. Diagnostic value of matrix metalloproteinase analysis in children with cleft lip and palate: abstract of the dissertation of a candidate of medical sciences: specialty 01/14/14 / Mardanov Ayaz Elkhanovich. Moscow, 2018:24 p. (In Russ.)].

11. Орлова Е.С. Этиопатогенетические факторы возникновения и развития воспалительных заболеваний пародонта. Университетская медицина Урала. 2022; 8(2):83-85. [Orlova E.S. Etiopathogenetic factors in the occurrence and development of inflammatory periodontal diseases. University medicine of the Urals. 2022; 8(2):83-85. (In Russ.)].

12. Патерега Н.И., Огоновский Р.З., Пограничная К.Р., Лаповец Л.Е. Особенности динамики изменения содержания провоспалительных цитокинов ротовой жидкости после удаления ретенированных нижних моляровна фоне применения апротинина и флюктуирующего тока. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019; 8(1):58-63. [Paterega N.I., Ogonovsky R.Z., Pogranichnaya K.R., Lapovets L.E. Features of the dynamics of changes in the content of pro-inflammatory cytokines in the oral fluid after removal of impacted lower molars against the background of the use of aprotinin and fluctuating current. Laboratory diagnostics. Eastern Europe. 2019; 8(1):58-63. (In Russ.)].

13. Самсонова Н.Н., Андреев Н.В., Климович Л.Г., Козар Е.Ф., Серёгин К.О. Исследование эффективности и безопасности транексамовой кислоты при операциях на сердце в условиях искусственного кровообращения. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2009. (6):63-70. [Samsonova N.N., Andreev N.V., Klimovich L.G., Kozar E.F., Seregin K.O. Study of the effectiveness and safety of tranexamic acid during heart surgery under artificial circulation. Thoracic and cardiovascular surgery. 2009. (6):63-70. (In Russ.)].

14. Хайдарова Н.Б. Анализ современных методов лечения хронического генерализованного пародонтита. Актуальные научные исследования в современном мире. 2020 (7):55-59. [Khaidarova N.B. Analysis of modern methods of treatment of chronic generalized periodontitis. Current scientific research in the modern world. 2020 (7):55-59. (In Russ.)].

15. Шадрина А.С. Матриксные металлопротеиназы: структура, функции и генетический полиморфизм. Патогенез. 2017; 15(2):14–23. [Shadrina A.S. Matrix metalloproteinases:

structure, functions and genetic polymorphism. Pathogenesis. 2017; 15(2):14–23. (In Russ.)]. doi 10.25557/GM.2017.2.7297.

16. Шерстобитов В.А. Анализ научных данных взаимосвязи полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ с атрофией костной ткани челюстей. Современные достижения хирургической стоматологии: сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Москва. 2021:75-78. [Sherstobitov V.A. Analysis of scientific data on the relationship between matrix metalloproteinase gene polymorphism and jaw bone atrophy. Modern achievements of surgical dentistry: a collection of materials from the II All-Russian Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists. Moscow. 2021:75-78. (In Russ.)].

17. Abramić M, Agić D. Survey of dipeptidyl peptidase III inhibitors: from small molecules of microbial or synthetic origin to aprotinin. Molecules. 2022; 27(9):3006. doi: 10.3390/molecules27093006.

18. Aggarwal NK, Subramanian A. Antifibrinolytics and cardiac surgery: The past, the present, and the future. Ann Card Anaesth. 2020; 23(2):193-199. doi: 10.4103/aca.ACA_205_18.

19. Bassiouni W., Ali M.A.M., Schulz R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease. FEBS J. 2021; 288(24):7162-7182. doi: 10.1111/febs.15701.

20. Bharadwaj P, Chouhan A.S. Periostat as a host modulating agent in the downregulation of matrix metalloproteinase (MMP) activity: A review. IP International Journal of Periodontology and Implantology. 2021; 4(4):192-194.

21. Chan D, Ooi E, Khalid O. A systematic review and meta-analysis of the role of doxycycline in chronic rhinosinusitis. J Laryngol Otol. 2023; 137(5):474-483. doi: 10.1017/S0022215122001803.

22. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. Periodontol 2000. 2014; 64(1):57-80. doi: 10.1111/prd.12002.

23. Cui N., Hu M., Khalil R.A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. 2017; 147:1–73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.

24. Da Rocha HA, Silva CF, Santiago FL, Martins LG, Dias PC, De Magalhães D. Local drug delivery systems in the treatment of periodontitis: a literature review. J. Int. Acad. Periodontol. 2015; 17(3):82-90.

25. Fischer T., Senn N., Riedl R. Design and structural evolution of matrix metalloproteinase inhibitors. Chemistry. 2019; 25(34):7960–7980. doi: 10.1002/chem.201805361.

26. Franco C, Patricia HR, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. Int J Mol Sci. 2017; 18(2):440. doi: 10.3390/ijms18020440

27. Ivachtchenko AV, Ivashchenko AA, Shkil DO, Ivashchenko IA. Aprotinin-Drug against Respiratory Diseases. Int. J. Mol. Sci. 2023; 24(13):11173. doi: 10.3390/ijms241311173.

28. Keestra JA, Grosjean I, Coucke W, Quirynen M, Teughels W. Non-surgical periodontal therapy with systemic antibiotics in patients with untreated chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. Journal of Periodontal Research. 2015; 50(3):294-314. doi: 10.1111/jre.12221.

29. Könönen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. J Clin Med. 2019; 8(8):1135. doi: 10.3390/jcm8081135.

30. Lisman T, Adelmeijer J, Huskens D, Meijers JCM. Aprotinin inhibits thrombin generation by inhibition of the intrinsic pathway, but is not a direct thrombin inhibitor. TH Open. 2021; 5(3):363-375. doi: 10.1055/s-0041-1735154.

31. Ma E, Chen W, Zhang C, Liu C, Lan J, Yan X. Ulinastatin in combination with aprotinin improves systemic inflammation in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Am J Transl Res. 2023; 15(11):6505-6513.

32. Tilakaratne A, Soory M. Anti-inflammatory actions of adjunctive tetracyclines and other agents in periodontitis and associated comorbidities. Open. Dent. J. 2014 (8):109-124. doi: 10.2174/1874210601408010109.

РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНСЕРВАНТОВ В ПИЩЕВОЙ И КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Е.В. Андриевская, Е.И. Полянских, Т.А. Федорова, Л.Л. Белышева

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены» г. Минск, Республика Беларусь

Введение. В современном производстве пищевых и косметических продуктов широкое применение находят консервирующие антимикробные и противогрибковые вещества. Применение консервантов позволяет в существенной степени увеличить сроки хранения и реализации продукции. В качестве консервирующих веществ широко используются сорбиновая, бензойная и салициловая кислоты, натамицин, а также пара-гидроксибензойная кислота и ее сложные эфиры – парабены.

На сегодняшний день проведено множество исследований, доказывающих, что чрезмерное поступление консервантов из пищевой и косметической продукции в организм человека может привести к различным нежелательным последствиям, наиболее распространенным из которых является развитие аллергической реакции. Существуют и специфические для конкретных консервирующих веществ последствия. Например, экспериментальные данные показывают, что парабены могут оказывать цитотоксический и канцерогенный эффект на ткани организма человека [1]. Натамицин и бензойная кислота используются в медицине в качестве компонентов лекарственных средств для лечения грибковых заболеваний кожных покровов. Поэтому избыточное поступление данных консервантов в организм человека может впоследствии привести к развитию резистентности организма к лечению [2].

Из-за риска возможного неблагоприятного воздействия консервантов на организм человека, их содержанием в потребительских товарах, в том числе пищевой и косметической продукции, строго регулируется во всем мире. В государствах-членах Евразийского экономического союза (ЕАЭС), в соответствии с санитарно-гигиеническими требованиями, максимально допустимое содержание сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты, натамицина, пара-гидроксибензойной кислоты и парабенов в пищевой продукции нормируется согласно ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств». Максимальное содержание консервантов в косметической продукции нормируется согласно ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции».

В соответствии с вышеуказанными нормативными документами, содержание бензойной кислоты и её солей в пищевой продукции в пересчете на бензойную кислоту, а также сорбиновой

кислоты и её солей в пересчете на сорбиновую кислоту, не должно превышать 2-0,5 г/кг, в зависимости от исследуемого продукта и присутствия в комбинации с другими консервантами. Содержание натамицина в поверхностном слое обрабатываемой им пищевой продукции не должно превышать 1 мг/дм^2 на глубину до 5 мм. Максимально допустимый уровень содержания парабенов в пересчете на бензойную кислоту в различной пищевой продукции составляет от 300 мг/кг до 1 г/кг. В косметической продукции максимально допустимый уровень содержания для салициловой кислоты составляет 0,5-3 %, для бензойной кислоты составляет 0,5-2,5 %, для сорбиновой кислоты составляет 0,6 %, для парабенов составляет до 0,8 % в суммарной концентрации, до 0,4 % в индивидуальной концентрации (в пересчете на пара-гидроксибензойную кислоту) [3,4].

Цели и задачи исследования. Отсутствие аттестованных методик определения натамицина в поверхностном слое колбасных изделий, а также пара-гидроксибензойной кислоты и ее сложных эфиров в пищевой и косметической продукции не позволяло контролировать содержание данных консервантов в указанной продукции.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования являлась разработка методики анализа, позволяющей эффективно и селективно проводить одновременное определение количественного содержания консервантов пара-гидроксибензойной кислоты и ее сложных эфиров, а также сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты, так как данные кислоты являются широко используемыми консервирующими веществами, имеют схожую структуру и спектральные характеристики и могут оказывать интерферирующее влияние на детекцию парабенов. Также актуальной задачей была разработка методики определения натамицина, так как данный консервант имеет сложную полиеновую структуру, поэтому оптимальные условия для определения натамицина отличаются от условий анализа остальных консервантов. Поэтому для контроля количественного содержания натамицина в поверхностном слое пищевой продукции (колбасных изделий) было принято решение разработать отдельную методику.

Одним из наиболее селективных и чувствительных методов анализа на сегодняшний день является высокоэффективная жидкостная хроматография, поэтому все методики анализа разработаны с применением данного инструментального метода анализа.

Материалы и методы исследования

Стандартные образцы аналитов: 4-гидроксибензойная кислота (99.0%, Sigma-Aldrich); сорбиновая кислота (99.0%, Acros Organics); бензойная кислота (99.5%, Sigma-Aldrich); салициловая кислота (99.0%); метил-4-гидроксибензоат (99,0%, Acros Organics); этил-4-гидроксибензоат (99.0%, Acros Organics); изо-пропил-4-гидроксибензоат (98.0%, Sigma- Aldrich); n-пропил-4-гидроксибензоат (99.0%, Acros Organics); изо-бутил-4-гидроксибензоат (98.0%,

Sigma-Aldrich); n-бутил-4-гидроксибензоат (99.0%, Sigma- Aldrich); бензил-4-гидроксибензоат (98.0%, Alfa Aesar), натамицин (91.7%, Sigma- Aldrich).

Вспомогательные реагенты: ацетонитрил для ВЭЖХ (≥99,9%, Fisher Chemical), метанол для ВЭЖХ (≥99,9%, Acros Organics), калий фосфорнокислый однозамещенный KH_2PO_4 (х.ч.), гексацианоферрата калия (II) ($K_4[FeCN_6]x3H2O$) (х.ч.), цинк сернокислый (х.ч.), натрий ускуснокислый (х.ч.), кислота уксусная ледяная (х.ч.).

Оборудование: В качестве вспомогательного оборудования использовалась охлаждаемая центрифуга 3-18K Sigma, ультразвуковая баня Sonorex super RK 103H, система для твердофазной экстракции Agilent Technologies, иономер (pH-метр) Thermo. Количественное определение консервантов проводили с помощью жидкостного хроматографа, оснащенного диодно-матричным детектором Agilent 1200.

Результаты и обсуждения. В рамках исследования были разработаны условия пробоподготовки и количественного определения аналитов, обеспечивающие наиболее полное выделение анализируемых веществ из пищевых и косметических матриц сложного состава, а также отделение целевых аналитов от сопутствующих соединений.

Для достижения селективности определения консервантов сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты, натамицина, а также пара-гидроксибензойной кислоты и ее сложных эфиров, изучены их спектральные характеристики, определены длины волн, при которых данные соединения имеют максимумы абсорбции.

Установлено, что оптимальная длина волны детектирования для парабенов, 4-гидроксибензойной кислоты и сорбиновой кислоты составляет 254 нм. Для количественного определения бензойной кислоты и салициловой кислоты детектирование следует проводить при 235 нм, а оптимальная длина волны детектирования натамицина составляет 303 нм. Спектры поглощения консервантов представлены на рисунке 1.

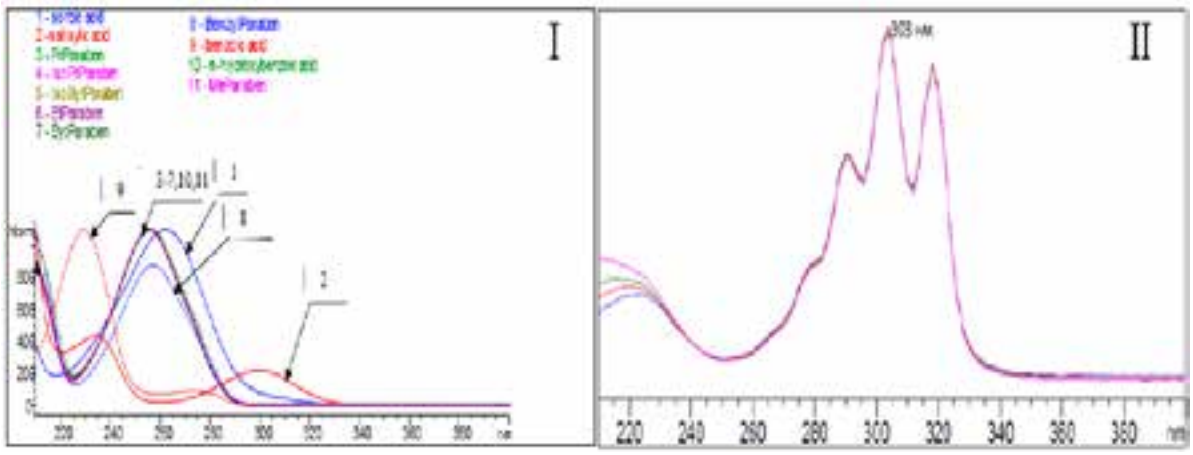


Рисунок 1. Спектры поглощения консервантов, (I): спектры поглощения бензойной кислоты (9), сорбиновой кислоты (1), салициловой кислоты (2), бензилпарабена (8), п-гидроксибензойной кислоты (10) и ее эфиров (3-7,11); (II): спектр поглощения натамицина

На специфичность количественного определения консервантов большое влияние оказывает разработка оптимальных условий экстракции, а также выбор наиболее подходящих условий хроматографического анализа.

Разработка методики определения пара-гидроксибензойной кислоты и парабенов в присутствии других консервантов в пищевой и косметической продукции

Для достижения оптимальной чувствительности методики определения пара-гидроксибензойной кислоты и парабенов, а также сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты, изучено их удерживание и величина отклика на обращеннофазных колонках Zobax RX C_8 (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон), Zobax SB Aq (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон), Zobax Eclipse XDB C_{18} (150 х 4,6 мм, зернение 5 микрон), Zobax Eclipse XDB Phenil (250 х 3 мм, зернение 5 микрон). Оптимальное разделение сигналов аналитов достигнуто при использовании обращеннофазной хроматографической колонки Zobax Eclipse XDB Phenil (250 х 3 мм, зернение 5 микрон). Адсорбент данной колонки содержит фенильные группы, что позволяет за счет межмолекулярного взаимодействия с аналитами, большинство из которых также содержит фенильную группу, добиться наилучшего разделения всех анализируемых веществ [5,6].

В ходе исследования было изучено влияние состава и pH хроматографической подвижной фазы на параметры удерживания консервантов. Исследовалась возможность использования в качестве компонента подвижной фазы ацетатного буферного раствора с pH 2,2; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 (0,05 М раствор ацетата аммония, pH регулировали с помощью раствора уксусной кислоты); фосфатного буферного раствора с pH 2,2; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 (0,05 М раствор калия фосфорнокислого однозамещенного, pH регулировали с помощью раствора фосфорной кислоты). В качестве органического компонента подвижной фазы была исследована возможность использования ацетонитрила и метанола.

Установлено, что изменение pH подвижной фазы не оказывает влияния на удерживание эфиров парагидроксибензойной кислоты. Парабены в указанном диапазоне pH буферного раствора находятся в молекулярной форме (pK > 8), хорошо удерживаются на неполярной стационарной фазе колонки. Изменение pH буферного раствора оказывает значительное влияние на удерживание пара-гидроксибензойной, бензойной, салициловой и сорбиновой кислот (pK этих соединений от 2,9 (салициловая кислота) до 4,8 (бензойная кислота)) и при pH > 3 они частично или полностью депротонируются и соответственно удерживание их ухудшается. Таким образом, установлено, что оптимальное разделение вышеперечисленных аналитов достигается при pH буферного раствора 2,2-2,3. При этом предпочтительнее использовать фосфатный буферный раствор, так как при использовании ацетатного буферного раствора наблюдается дрейф базовой линии. Оптимальным органическим компонентом подвижной фразы является ацетонитрил [7,8].

Результаты исследования зависимости параметров удерживания пара-гидроксибензойной кислоты, метилпарабена, этилпарабена, пропилпарабена, изопропилпарабена, бутилпарабена, изобутилпарабена, бензилпарабена, бензойной, салициловой и сорбиновой кислот от значения pH буферного раствора представлены на рисунке 2.

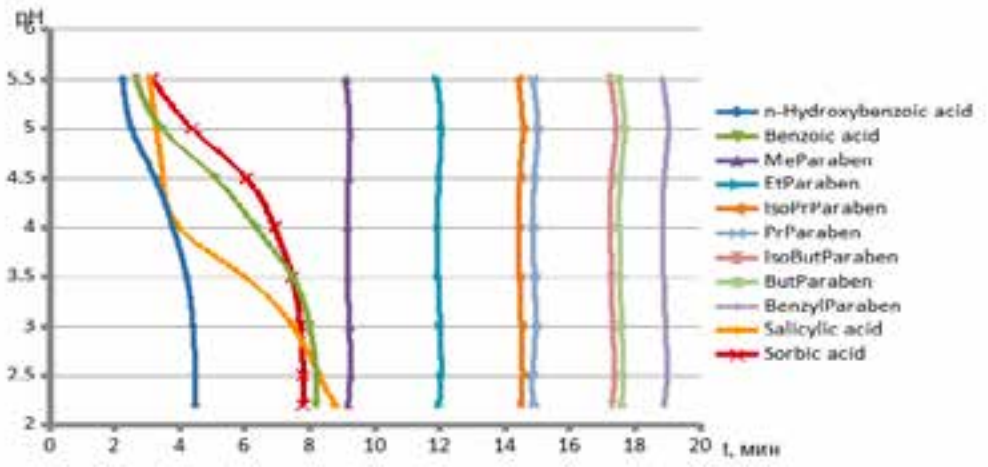


Рисунок 2. Зависимость времени удерживания консервантов от pH буферного раствора

Таким образом, в качестве подвижной фазы для определения парагидроксибензойной кислоты и парабенов, а также сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты, оптимальным является использование фосфатного буферного раствора с pH 2,2-2,3 : ацетонитрил в режиме градиентной подачи подвижной фазы.

Для разработки оптимальных условий подготовки пробы изучено выделения пара-гидроксибензойной кислоты, ее сложных эфиров парабенов, сорбиновой, бензойной и салициловой кислот из пищевой и косметической продукции. Для этих целей в пробы пищевой и косметической продукции, не содержащие анализируемые консерванты, были внесены стандартные растворы вышеуказанных консервантов с определенной известной концентрацией. В качестве экстрагентов использовали дистиллированную воду, водно-метанольные растворы с различным содержанием водной и органических фаз, метанол, водно-этанольные растворы с различным содержанием водной и органических фаз, этанол.

Установлено, что в ходе экстракции аналитов при помощи дистиллированной воды хорошо извлекаются гидрофильные соединения, такие как п-гидроксибензойная, сорбиновая, бензойная и салициловая кислоты. Для экстракции менее гидрофильных соединений, таких как эфиры пара-гидроксибензойной кислоты, данный экстрагент является малоэффективным. При увеличении содержания менее полярного экстрагента (метанола) в водной фазе, экстрагирующая сила смеси в отношении парабенов увеличивается, причем полное извлечение указанных консервантов из пищевой и косметической матрицы достигается при использовании чистого

метанола. Этанол характеризуется более низкой степенью извлечения вышеуказанных аналитов, чем метанол.

Таким образом, для экстракции пара-гидроксибензойной кислоты, ее сложных эфиров парабенов, сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты из пищевой и косметической продукции предпочтительнее использовать метанол. Данный растворитель обладает гидрофобными и гидрофильными свойствами и хорошо извлекает данные аналиты из матриц сложного состава.

На рисунке 3 представлена хроматограмма, полученная при анализе консервы мясной для детского питания с внесением 11 консервантов в количестве 25 мг/кг каждого (экстрагент: метанол).

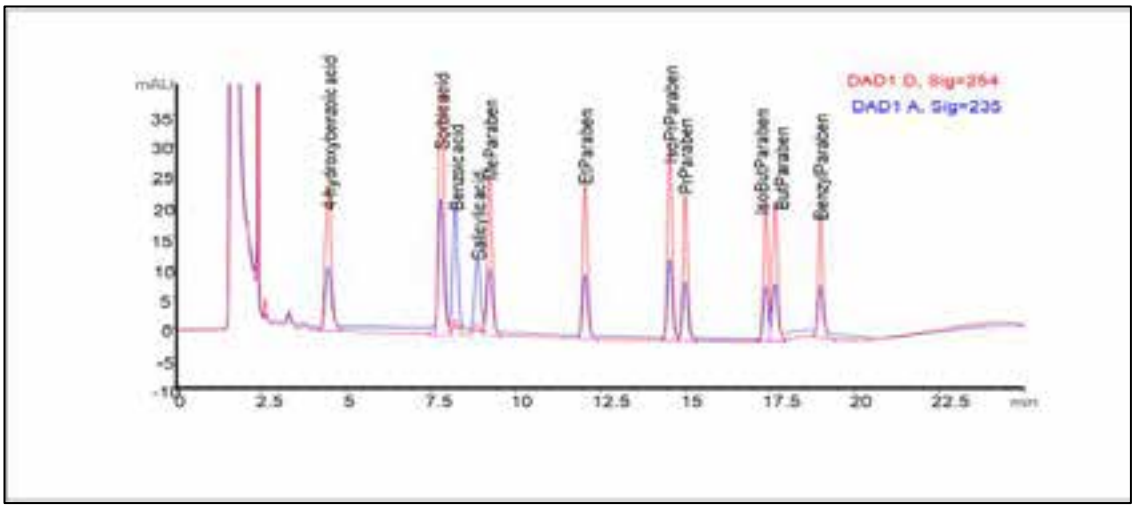


Рисунок 3. Хроматограмма, полученная при анализе консервы мясной для детского питания с внесением 11 консервантов в количестве 25 мг/кг каждого (экстрагент: метанол)

На основании проведенных исследований разработаны методики определения пара-гидроксибензойной кислоты, ее сложных эфиров парабенов, сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты в пищевой и косметической продукции. Анализ проводится путем извлечения консервантов из пробы метанолом, очистки экстракта с помощью реактивов Карреза I, Карреза II, центрифугировании и последующем количественном определении методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектированием при длинах волн 254 нм и 235 нм.

Диапазон измерений массовых долей пара-гидроксибензойной кислоты, ее сложных эфиров парабенов, салициловой кислоты в пищевой продукции составил от 10,0 до 1000,0 мг/кг (за исключением сорбиновой и бензойной кислот). Для сорбиновой и бензойной кислоты диапазон измерений составил от 10,0 до 3000,0 мг/кг. Диапазон измерений массовых долей пара-гидроксибензойной кислоты, ее сложных эфиров парабенов, сорбиновой, бензойной и салициловой кислоты в косметической продукции составил от 10,0 до 10000,0 мг/кг.

Разработка методики определения натамицина в поверхностном слое колбасных изделий

Для достижения оптимальной чувствительности методики определения натамицина изучены его параметры удерживание и величина отклика на обращеннофазных колонках Zobax RX C_8 (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон), Zobax Eclipse Plus C_{18} (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон) и Waters Spherisorb ODS2 (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон). Установлено, что оптимальная величина сигнала аналита наблюдается при использовании хроматографической колонки Zobax Eclipse Plus C_{18} (250 х 4,6 мм, зернение 5 микрон).

В ходе исследования было изучено влияние состава и pH хроматографической подвижной фазы на параметры удерживания натамицина. Исследовалась возможность использования в качестве компонента подвижной фазы ацетатного буферного раствора с pH 2,2; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 (0,05 М раствор ацетата аммония, pH регулировали с помощью раствора уксусной кислоты); фосфатного буферного раствора с pH 2,2; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 (0,05 М раствор калия фосфорнокислого однозамещенного, pH регулировали с помощью раствора фосфорной кислоты). В качестве органического компонента подвижной фазы была исследована возможность использования ацетонитрила и метанола.

В ходе исследования влияния состава и pH хроматографической подвижной фазы на параметры удерживания натамицина, установлено, что при использовании ацетатного буферного раствора с pH 4,5-4,7 наблюдается наилучшее отделение пика натамицина от мешающих определению примесей. Оптимальным органическим компонентом подвижной фразы является метанол.

Таким образом, в качестве подвижной фазы для определения натамицина оптимальным является использование смеси ацетатный буферный раствор pH 4,7 : метанол (1:3 об. %) в режиме изократической подачи подвижной фазы.

Для разработки оптимальных условий подготовки пробы изучено выделения натамицина, из поверхностного слоя пищевой продукции с помощью различных растворителей.

Установлено, что в ходе экстракции натамиицина при помощи различных экстрагентов, экстрагирующая сила в отношении данного аналита увеличивается при использовании водно-метанольных и водно-этанольных смесей. Причем, при одинаковом объемном отношении, экстрагирующая способность смеси, содержащей более полярный метанол, выше по сравнению со смесью, содержащей этанол. Полное извлечение консерванта натамицина из пищевой матрицы достигается при использовании метанольно-водной смеси при соотношении растворителей 1 : 1.

Таким образом, для экстракции консерванта натамицина из поверхностного слоя пищевой продукции предпочтительнее использовать смесь метанол : вода (1 : 1). Данная смесь экстрагентов хорошо извлекает натамицин из матриц сложного состава.

На рисунке 4 представлена хроматограмма, полученная при анализе поверхностного слоя колбасы сырокопченой с внесением натамицина в количестве 0,5 мг/дм^2 (экстрагент: метанол :вода (1:1)).

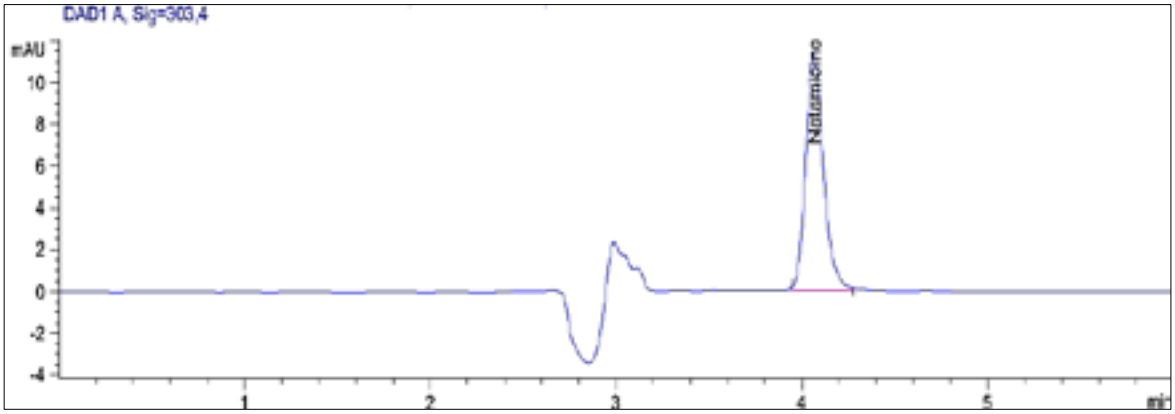


Рисунок 4. Хроматограмма, полученная при анализе поверхностного слоя колбасы сырокопченой с внесением натамицина в количестве 0,5 мг/дм^2 каждого
(экстрагент: метанол:вода (1:1))

Также на основании проведенных исследований разработана методика определения натамицина в поверхностном слое пищевой продукции (колбасных изделий). Анализ проводится путем извлечения консерванта из пробы смесью метанол : вода (1 : 1), фильтровании, очистки экстракта с помощью картриджей для твердофазной экстракции Sep-Pak C18 Classic Cartridge и последующем количественном определении методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектированием при длине волны 303 нм.

Диапазон измерений массовой доли натамицина в поверхностном слое пищевой продукции (колбасных изделий) составил 0,02–5,00 мг/дм^2.

Практическое применение разработанных методик

На сегодняшний день, с использованием разработанных методик, проведено скрининговое исследование более 400 образцов пищевой и косметической продукции, реализуемой на территории Республики Беларусь.

Исследовано 100 образцов колбасных изделий на содержание консерванта натамицина в поверхностном слое продукции. Также исследовано 100 образцов различных пищевых продуктов на содержание пара-гидроксибензойной кислоты, метилпарабена, этилпарабена, пропилпарабена, изопропилпарабена, бутилпарабена, изобутилпарабена, бензилпарабена, бензойной, салициловой и сорбиновой кислоты. Установлено, что количественное содержание исследуемых консервантов в пищевой продукции не превышает допустимых пределов, предусмотренных техническим регламентом Таможенного союза.

В ходе скринингового исследования косметической продукции было проанализировано содержание пара-гидроксибензойной кислоты, метилпарабена, этилпарабена, пропилпарабена,

изопропилпарабена, бутилпарабена, изобутилпарабена, бензилпарабена, бензойной, салициловой и сорбиновой кислоты в 200 образцах косметической продукции. Установлено наличие парабенов в 62 образцах. В 60 образцах содержание парабенов не превысило предусмотренный техническим регламентом Таможенного союза предел. В одном образце обнаружено превышение допустимого предела содержания. Ещё в одном образце косметического средства для детей выявлено содержание парабенов, хотя информация о наличии данных консервантов не была вынесена на этикетку.

На рисунке 5 приведена информация о частоте использования парабенов в косметической продукции по результатам лабораторного анализа.

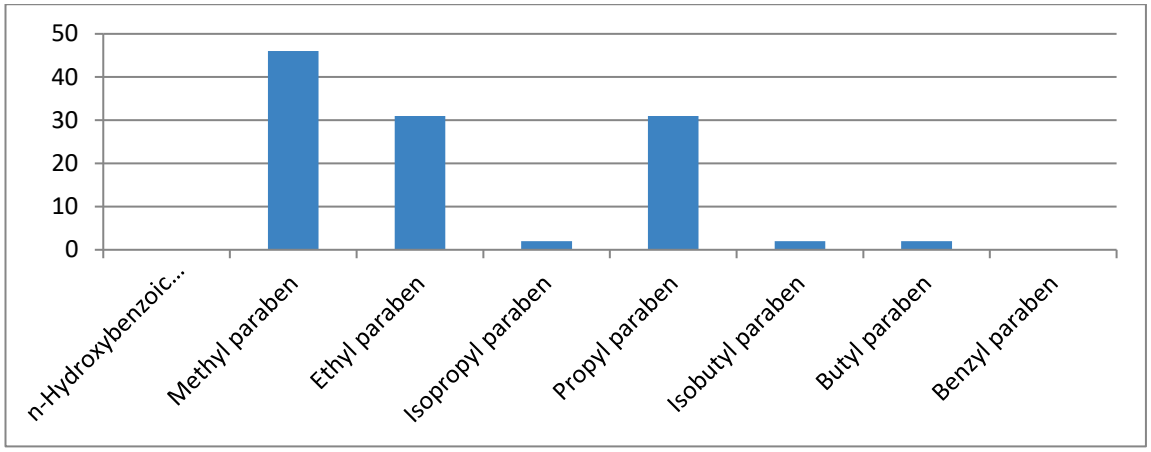


Рисунок 5. Частота использования парабенов в косметической продукции по результатам лабораторного анализа

На данный момент все методики проходят внедрение в практику учреждений государственного санитарного надзора. Применение разработанных в данном исследовании методик анализа позволяет повысить эффективность контроля безопасности пищевой и косметической продукции, реализуемой на территории Республики Беларусь.

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны методики одновременного определения пара-гидроксибензойной кислоты и ее сложных эфиров в присутствии других консервантов в пищевой и косметической продукции, а также методика определения натамицина в поверхностном слое колбасных изделий. Все разработанные методики прошла метрологическую аттестацию в Белорусском государственном институте метрологии и утверждены в установленном порядке. Внедрение разработанных методик в практику учреждений государственного санитарного надзора позволит проводить контроль за содержанием консервантов в пищевой и косметической продукции в соответствии с требованиями, предусмотренными техническим регламентом Таможенного союза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sony, M. G. Safety assessment of esters of 4-hydroxibenzoic acid (parabens) Food and Chem / M.G. Sony, I.G. Carabin, G.A. Burdock. // Toxicol, 2005. – Vol. 43. – P. 985–1015.

2. Малова, И. О. Натамицин-противогрибковое средство класса полиеновых макролидов с необычными свойствами / И. О. Малова, Д. Д. Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии, 2015. – №. 3. – С. 161–184.

3. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств : ТР ТС 029/2012 : принят 20.07.2012 : с изм. на 18.09.2014 / Евраз. экон. комис. – Минск : ООО «Юрспектр», 2020. – 308 с.

4. О безопасности парфюмерно-косметической продукции : ТР ТС 009/2011 : принят 23.09.2011 : с изм. на 10.04.2018 / Евраз. экон. комис. – Минск : ООО «Юрспектр», 2020. – 257 с.

5. Полянских Е.И. Определение содержания пара-гидроксибензойной кислоты и ее эфиров в пищевой и косметической продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. И. Полянских, Е. В. Андриевская, Т. А. Федорова, Н. В. Буневич // Здоровье и окружающая среда : сборник материалов международной научно-практической конференции, Минск, 30 сентября – 01 октября 2021 года. / Белорусский государственный университет ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2021. – С. 294–295.

6. Полянских Е.И. Разработка условий хроматографирования парабенов (эфиров п-гидроксибензойной кислоты) с целью их количественного определения в пищевой и косметической продукции / Е. И. Полянских, Т. А. Федорова, Л. Л. Белышева, С. Ю. Петрова // Здоровье и окружающая среда : сборник материалов международной научно-практической конференции, Минск, 14 – 15 ноября 2019 года. / Государственное учреждение образования "Республиканский институт высшей школы" ; редкол.: Н. П. Жукова (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – С. 372.

7. Полянских Е.И. Актуальные вопросы определения эфиров пара-гидроксибензойной кислоты (парабенов) в пищевой продукции / Е. И. Полянских, Е. В. Андриевская, Т. А. Федорова, С. Ю. Петрова // Сахаровские чтения 2022 года: экологические проблемы XXI века : Материалы 22-й Международной научной конференции, Минск, 19–20 мая 2022 года. / Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь ; редкол.: С. А. Маскевич (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – Т. 1. – С. 269–272.

8. Полянских Е.И. Результаты исследования содержания эфиров пара-гидроксибензойной кислоты (парабенов) в косметической продукции, поступающей на рынок республики Беларусь / Е. И. Полянских, Л. Л. Белышева, Е. В. Андриевская, С. Ю. Петрова // Сахаровские чтения 2022 года: экологические проблемы XXI века : Материалы 22-й Международной научной конференции, Минск, 19–20 мая 2022 года. / Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь ; редкол.: С. А. Маскевич (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – Т. 1. – С. 266–269.

ВНУТРИПРОСВЕТНАЯ ТРАНСПАПИЛЛЯРНАЯ ХИРУРГИЯ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ И ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ПРОТОКОВ ПОД КОНТРОЛЕМ ЦИФРОВОГО УЛЬТРАТОНКОГО ВИДЕОЭНДОСКОПА. ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРИОРИТЕТЫ НЕИЗМЕННЫ: ОТ НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ ПО ФИЗИКЕ ДО МЕДИЦИНСКОГО СУПЕР-ИМПУЛЬСНОГО ФИБРОВОЛОКОННОГО ТУЛИЕВОГО ЛАЗЕРА ДЛЯ КОНТАКТНОЙ ЛИТОТРИПСИИ

М.А. Анищенко[1,2], Е.А. Воробьева[1,2], С.А. Будзинский[1,2], Е.Д.Федоров[1,2], С.Г. Шаповальянц[1,2]

[1]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва.

[2]ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 31 им. академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения г. Москвы»

Введение. Приоритетным направлением современной медицины является малоинвазивное лечение заболеваний панкреатобилиарной зоны, в частности «сложного» холедохо- и вирсунголитиаза (ВЛ). Наиболее перспективными в данной области являются эндоскопические внутрипросветные методики. Они позволяют сократить время вмешательства, ускорить период восстановления, минимизировать риск развития осложнений. Это не только в целом улучшает показатели эффективности оказания помощи, но и предоставляет шанс на успешный исход заболевания пациентам, имеющим противопоказания к проведению более травматичного трансабдоминального вмешательства при «сложном» холедохо- и вирсунголитиазе (ВЛ).

Понятие «сложный» холедохолитиаз (ХЛ) объединяет в себе клинические ситуации, связанные с наличием у пациентов крупных (более 15 мм) и/или множественных камней желчных протоков (ЖП), либо их локализацию во внутрипечёночных ЖП, развитием синдрома Мириззи, узкого интрапанкреатического отдела общего желчного протока (ОЖП), которые затрудняют захват и извлечение билиарных камней во время «классического» эндоскопического ретроградного транспапиллярного вмешательства (ЭРТВ) (рис.1а). Дополнение эндоскопической папиллосфинктеротомии (ЭПСТ) баллонной дилатацией (БД) области ЭПСТ и проведение механической литотрипсии (МЛТ) повышают эффективность ЭРТВ, но частота полной санации ЖП, даже при их комбинированном применении, у пациентов со «сложным» ХЛ не превышает 65-70% [1]. Вынужденная трансабдоминальная холедохолитотомия, несмотря на высокую непосредственную эффективность, связана с более значимым риском осложнений, продолжительным периодом лечения и реабилитации пациентов [2].

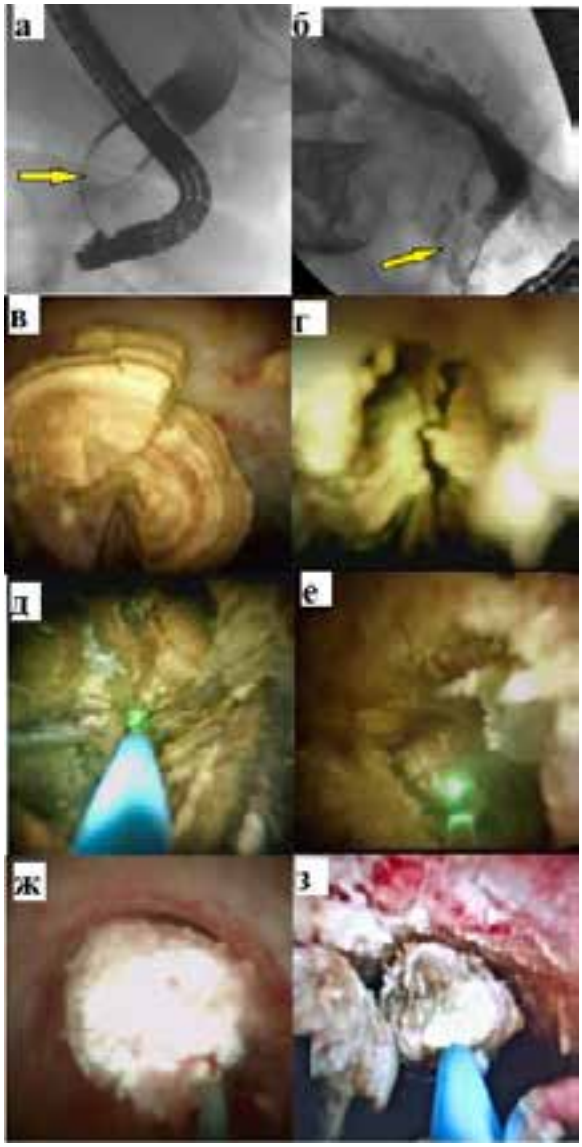


Рис. 1. Конкременты билиарного и панкреатического тракта

а – холангиограмма, крупный холедохотитиаз (указан стрелкой), б – панкреатикограмма, вирсунголит в проекции головки ПЖ (указан стрелкой), в-е: пероральная транспапиллярная холангиоскопия: в - ЭГЛ билиарного конкремента, г - ЭГЛ вирсунголита, д – ЛЛТЛ билиарного конкремента, е – ЛЛГЛ билиарного конкремента, ж,з – пероральная транспапиллярная панкреатикоскопия: ж – вирсунголит в просвете панкреатического протока, з – ЛЛТЛ вирсунголита

Показанием к малоинвазивному лечению ВЛ является наличие единичных вирсунголитов, диаметром более 5 мм, располагающихся преимущественно в проекции головке поджелудочной железы (ПЖ) (рис.1б). При этом до сих пор «золотым стандартом» малоинвазивного лечения конкрементов панкреатических протоков является экстракорпоральная ударноволновая литотрипсия (ЭУВЛ) с последующим эндоскопическим транспапиллярным извлечением фрагментов камней [3]. Тем не менее, в настоящее время в научном сообществе проводятся сравнительные исследования по определению эффективности ЭУВЛ и внутрипротоковой контактной литотрипсии [4,5] Так, в настоящее время группа американских коллег занимается

набором пациентов для мультицентрового рандомизированного исследования [4], а группа коллег из университета Индианы, опубликовали собственные результаты по сравнению ЭУВЛ с электрогидравлической литотрипсией (ЭГЛ) [5]. Авторы указали на сопоставимый технический успех методик при достоверном преимуществе транспапиллярной фрагментации в отношении меньшего числа сеансов дробления (1.6 ± 0.6 против, $p < 0.001$), а также сокращения времени вмешательства (101.6 ± 68.2 vs 191.8 ± 111.6 min, $p = 0.001$).

Первые успешные попытки ЭГЛ камней ОЖП были предприняты H.J.Burhenne в 1975г. под рентгенологическим контролем без оптической визуализации, создавая риск повреждения тканей ОЖП [6]. В 1989 году S.T.Fan с соавт. опубликовали сообщение об успешной ЭГЛ чрескожным доступом под контролем холангиоскопа у 20 больных [7]. В 1993 году K.Binmoeller с соавт. представили свой удачный опыт ЭГЛ у 64 из 65 пациентов во время ЭРТВ с прямой оптической визуализацией камней и с использованием материнско-дочерних дуоденоскопа и холангиоскопа. [8, 9]

В 1964 году советский ученые А.М.Прохоров и Н.Г. Басов были удостоены Нобелевской премии по физике «за фундаментальную работу в области квантовой электроники, которая привела к созданию генераторов и усилителей, основанных на мазерно-лазерном принципе», разделив её с американским физиком Ч.Таунсом [10]. В дальнейшем А.М.Прохоров продолжил развитие данного направления в медицине, которое имело приложение в офтальмологии, стоматологии, онкологии и хирургии [11]. Контактная лазерная литотрипсия (ЛЛ) с применением ИАГ-неодимового лазера была впервые применена при ХЛ в 1986 году [12]. H.Neuhaus с соавт. в 1992г. убедительно доказали преимущества навигации и разрушения камней под контролем сверхтонких эндоскопов [13]. В свою очередь, J.Hochberger с соавт. в 1998г. опубликовали результаты успешного лечения 53/60 (87%) больных со «сложным» холедохолитиазом, используя для этих целей «родаминовый» лазер [14]. В 1998 году A.K.Das с соавт. сообщили о первом опыте успешного разрушения желчных камней у 3 (75,0%) из 4 больных с помощью нового гольмиевого-ИАГ лазера; вмешательства также проводили под непосредственным эндоскопическим контролем, но чрескожным доступом [15].

В 2013–2014 годах в свет вышли первые работы, демонстрирующие возможности нового вида лазера, использующего ионы редкоземельного металла тулия. По сравнению с гольмиевым, новый вид лазера обладает более высокой степенью поглощения излучения водой (тулиевый - 1,94 нм, гольмиевый - 2,1 нм). Подача лазерной энергии тулиевого лазера по фиброволокну позволяет в разы усилить передачу энергии окружающей водной среде. Кроме этого, суперимпульсный режим работы предоставляет возможность генерировать широкий диапазон энергии (от 0,025 до 6 Дж), частоты (от 1 до 1600 Гц) и продолжительности воздействия в единичном импульсе (от 0,2 до 60 мс). Это позволяет достичь до 4 раз более высокий КПД.

Вариабельность настроек установки позволяет обеспечить прецизионное воздействие на мишень в каждой конкретной клинической ситуации, реализуя, таким образом, персонифицированный подход в лечении пациентов. Описанная технология доказала свою эффективность и вошла в повседневную практику в урологии для лечения мочекаменной болезни. Так, в сравнительном рандомизированном исследовании ТЛ продемонстрировал преимущество перед ГЛ: полная санация мочевыводящих протоков после первого сеанса литотрипсии при уретерореноскопии была достигнута в 92% против 67% случаев, соответственно, p=0,001. Продолжительность вмешательства также была ниже при использовании тулиевого лазера (49 мин против 57 мин, p=0,008). [16].

При этом, в настоящее время в мировой литературе приводятся лишь единичные наблюдения применения тулиевого лазера в литотрипсии конкрементов желчевыводящих и панкреатического протоков [16-18]. Важно отметить, что в нашей клинике была проведена первая в мире успешная литотрипсия конкремента панкреатического протока с помощью отечественного тулиевого лазера [19].Ввиду вышеизложенного очевидна актуальность исследований и обобщения полученного нами материала для раскрытия новых перспектив применения ТЛ в лечении заболеваний панкреатобилиарной зоны.

В 2007 году врачебному сообществу был представлен новый сверхтонкий гибковолоконный эндоскоп, предназначенный для проведения через инструментальный канал дуоденоскопа и выполнения пероральной транспапиллярной холангиопанкреатикоскопии (ПТХПС) одним оператором [20]. Указанное устройство обеспечивает качественную визуализацию, простоту управления, а также возможность проведения ряда инструментов, в том числе и зонда для внутрипротоковой литотрипсии [21,22].

Таким образом, начало широкого внедрения в клиническую практику современной оптической ПТХПС, создание компактных, относительно недорогих и доступных большинству клиник систем для лазерной и ЭГ литотрипсии открывают новые перспективы в лечении «сложного» ХЛ и ВЛ. Следует отметить, что на сегодняшний день нет опубликованных работ, сравнивающих несколько методик транспапиллярной внутрипротоковой литотрипсии. В арсенале нашей клиники доступны три методики контактной литотрипсии: ЭГЛ, а также ЛЛ с использованием ГЛ и ТЛ. Данный факт только подтверждает новизну и актуальность данного направления исследования.

Цель исследования: оценить эффективность различных методик внутрипротоковой контактной литотрипсии (КЛ) при «сложном» ХЛ и ВЛ.

Материал и методы. В нашей клинике с января 2018 по август 2023г. КЛ при пероральной транспапиллярной холангиопанкреатикоскопии использовалась у 49 пациентов в 61 случае (холангиоскопия – 40 больных/47 наблюдений, панкреатикоскопия – 9 пациентов/14 случаев).

Показанием к КЛ камей желчевыводящих протоков послужил крупный холедохолитиаз, не поддающийся механической литотрипсии у 37(92,5%) пациентов, «вклинение» конкремента при традиционной литоэкстракции у 1(2,5%), узкий интрапанкреатический отдел холедоха – 1(2,5%), внутрипечёночный холедохолитиаз – 1 (2,5%). К панкреатикоскопии с последующей литотрипсией (9 пациентов) прибегали при крупных (более 5 мм) единичных вирсунголитах, не доступных традиционной транспапиллярной экстракции. Использовали три вида КЛ: электрогидравлическую, лазерную фрагментацию с помощью гольмиевого и тулиевого лазеров. Основные демографические данные, особенности анамнеза и характеристики конкрементов указаны в таблице 1.

Таблица 1. Основные демографические показатели, анамнестические данные, особенности локализации и размеры конкрементов при ХЛ и ВЛ

Показатель		Результат
Медиана возраста, лет		61,5 (58; 81)
Пол	М (%)	17 (34,7%)
	Ж (%)	32 (65,3%)
ПХЭС, (%)		11 (22,5%)
ЖКБ, (%)		23 (46,9%)
Хронический калькулезный панкретит, вирсунголитиаз		9 (18,4%)
Сеансы дистанционной ударноволновой литотрипсии при ХЛ в анамнезе, (%)		3 (6,1%)
Локализация конкрементов желчевыводящих протоков, n=40 (81.6%)		
Общий желчный/общий печёночный проток		39 (97,5%)
В т.ч. синдром Мириззи		*7 (17,5%)*
Вклинение корзинки/конкремента в терминальный отдел ОЖП		*3 (7,5%)*
Внутрипечёночные протоки		1 (2,5%)
Характеристики билиарных конкрементов		
Размер, мм. (медиана), (диапазон)		20 (10;15) (10-40)

N конкрементов	2 (1;4)
Характеристики вирсунголитов	
Размер, мм. (медиана), (диапазон)	7 (6;8) (2-18)
N конкрементов	2 (1;2)
Локализация конкрементов в Вирсунговом протоке	
Терминальный отдел	1 (11,1%)
Головка	4 (44,4%)
Перешеек	4 (44,4%)

Внутрипротоковые эндоскопические манипуляции выполнялись с помощью одноразовой системы прямой визуализации SpyGlass DSI, DSII (BSC, США). Непосредственно контактная литотрипсия осуществлялась с помощью различных методик.

При ЭГЛ использовался аппарат Autolith™ (США), укомплектованный волокном для литотрипсии диаметром 1,9 Fr (0.6 мм). Сеанс фрагментации выполнялся при следующих установках: уровень энергии «low», «medium», «high» в зависимости от сложности литотрипсии с 5-30 импульсами при каждом нажатии педали. Манипуляции производились в водной среде, обеспечиваемой постоянной инфузией изотонического раствора хлорида натрия с диоксидином (10 мг/мл в разведении 1:20). Кончик волокна во время литотрипсии располагался приблизительно на расстоянии 1 мм от конкремента (рис.1в).

Для выполнения ЛЛ (рис.1д,е,ж) использовался фиброволоконный суперимпульсный тулиевый лазер (FiberLaseU2, Россия), либо гольмиевый лазер (Dornier Medilas, Германия). Подведение лазерного луча производилось по волокну диаметром 400 мкр. Во время работы ЛЛТЛ применяли режим «фрагментация» с диапазоном настроек частоты 2,5-10 Гц и энергией импульса 1-6 Дж. При ЛЛГЛ использовали режим «fragmenting» со средней частотой 5-15 Гц и энергией импульса 0,8-1,5 Дж. Зеленый навигационный луч лазерного волокна помогает визуально определить область проводимого воздействия. Поэтому его дистальный конец располагали на расстоянии 1-2 мм от поверхности конкремента, сессии лазерного воздействия также проводились в водной среде. В выборе метода фрагментации ориентировались на техническую доступность в каждой конкретной клинической ситуации. В случае особенно плотных конкрементов, не доступных моментальному дроблению, мы допускали разделение операции на несколько этапов. При этом в последующем мы стремились применять альтернативный способ литотрипсии, как правило, лазерную методику.

Статистический анализ проведён с помощью пакета Statistika 6.0. При определении различий между группами для качественных показателей использовали критерий Краслела-Уоллеса, а для количественных – U-критерий Манна-Уитни.

Результаты. *Контактная литотрипсия билиарных конкрементов.* Применение контактных методик литотрипсии билиарных конкрементов потребовалось в 47 наблюдениях у 40 больных. У одной пациентки выполнялось четыре вмешательства, у четырёх - по 2 сеанса литотрипсии, а у 35 – 1 процедура дробления. При этом ЛЛТЛ была проведена в 11 (23,4%) случаях у 10 больных, ЛЛГЛ – в 16 (34,0%) наблюдениях у 15 пациентов, а ЭГЛ – в 20 (42,6%) случаях у 15 человек.

В целом, средняя продолжительность всей операции при использовании контактной литотрипсии составила 86±24 мин. Во время применения ЛЛТЛ она равнялась 103,8±17,4 мин, при ЛЛГЛ – 102,1±24,1 мин, а при ЭГЛ 95,9±30,2 мин.

Общая эффективность контактных методов фрагментации составила 90%. Сравнительная оценка результатов контактной литотрипсии представлена в таблице 2.

Таблица 2. Сравнительные показатели применения различных методик контактной литотрипсии при ХЛ

	ЛЛТЛ	ЛЛГЛ	ЭГЛ	p
Продолжительность вмешательства	103,8±17,4	102,1±24,1	95,9±30,2	>0,05
Общий успех	**9/10 (90%)**	**14/15 (93,3%)**	**13/15 (86,7%)**	**<0,01**
Успех после 1 вмешательства	**8/9 88,9%**	**13/14 (92,9%)**	**8/13 61,5%**	**<0,05**
Среднее кол-во вмешательств, необходимое для полной санации	**1,1**	**1,07**	**1,6**	**<0,05**
Сочетание с МЛТ	0	3/14 (21,4%)	3/13(23,1%)	>0,05
Сочетание с ЛЭ под контролем ХС (Spy Basket)	1/9 (11,1%)	0	2/13(15,4%)	>0,05
Осложнения	0	1(6,7%)	0	>0,05
П/о койко-день	5,9±2,9	5,1±2,2	7,8±3,4	>0,05

Таким образом, контактная литотрипсия с использованием лазерных методик продемонстрировала практически сопоставимые результаты, при их попарном сравнении достоверных различий обнаружено не было. ЭГЛ, при этом, достоверно уступает ЛЛ по результатам общей эффективности, успеха фрагментации и литоэкстракции во время первичной операции и среднего количества вмешательств, необходимых для полной санации желчевыводящих протоков. Важно отметить, что при ЭГЛ неадекватная фрагментация конкрементов была отмечена чаще, что требовало смены методики контактной литотрипсии. **Так,**

при первичной неудаче применения ЭГЛ в двух наблюдениях использовали ЛЛТЛ, что позволило достичь полноценного и адекватного результата.

Максимальное количество вмешательств – 4 для достижения адекватного дробления конкремента потребовалось у одной пациентки с гигантским ХЛ (диаметр конкремента до 65 мм). При этом две первые операции выполнялись с использованием ЭГЛ, а последующие две – с применением ЛЛТЛ, что позволило раздробить конкремент, и завершить лечение извлечением всех остаточных фрагментов камней при финальном четвертом сеансе.

Тем не менее, у 4/40 (10%) больных полная санация желчевыводящих протоков не была достигнута. В 3 случаях причиной неудачи послужила интраоперационная диагностика синдрома Мириззи III-IV типа, а в 1 – ввиду вклинения литотриптической корзинки с очень крупным фрагментом конкремента в терминальный отдел ОЖП, не поддающимся дроблению в ходе трёх сеансов с применением различных технических подходов. Все пациенты были успешно оперированы хирургическим путем. В первых трёх случаях была выполнена холецистэктомия, холедохолитотомия, литоэкстракция с ушиванием стенки ОЖП на ранее эндоскопически установленном билиарном стенте. При вклинении литотриптической корзинки выполнялась дуоденотомия, холедохолитотомия с извлечением камня и эндоскопического инструмента.

Контактная литотрипсия конкрементов панкреатического протока. Использование КЛ потребовалось в 14 случаях у 9 пациентов с ВЛ. Результаты представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Показатели применения различных методик контактной литотрипсии при ВЛ

Показатель	ЛЛТЛ	ЛЛГЛ	ЭГЛ
Продолжительность сеанса литотрипсии	25 (17,5;32,5)	6	4 (2,5;6,5)
Общий успех	**3/4 (75%)**	**1/1 (100%)**	**2/4 (50%)**
Успех после 1 вмешательства	**3/4 (75%)**	**1/1 (100%)**	**2/4 (50%)**
Среднее N вмешательств для полной санации	**1,2**	**1**	**1,8**
Осложнения	0	0	0
П/о койко-день	6±2,5	2	8±2

Полученные результаты, не смотря на небольшую статистическую выборку, также демонстрируют тенденцию к более высокой эффективности лазерных методик литотрипсии перед ЭГЛ при ВЛ. Как говорилось ранее, при неэффективности/невозможности полной фрагментации конкремента ввиду его больших размеров, неудобной локализации с частичным расположением в просвете боковых бранш панкреатического протока или высокой плотности, допустимым было разделение вмешательства не несколько этапов. При первоначальном

использовании ЭГЛ в дальнейшем прибегали к ЛЛТЛ. Так, максимальное количество вмешательств – 3 (первые две – ЭГЛ, завершающая – ЛЛТЛ) – для достижения полной санации панкреатического тракта потребовалось у пациентки с локализацией конкремента в месте слияния главного и добавочного панкреатического протоков. Также важно отметить, что при наличии ВЛ в сочетании с панкреатическими стриктурами полной санации в ходе одного вмешательства достичь не удалось (2(22,2%). В таком случае проводилось этапное лечение с использованием пластиковых стентов с последующей повторной попыткой в среднем через 3-6 мес. Подобный подход позволил достичь адекватного расправления стриктуры, коррекции архитектоники протока, а также пролонгированного механического воздействия стента на вирсунголит. Это, в свою очередь, предоставило возможность оптимального позиционирования панкреатикоскопа с волокном для литотрипсии и выполнения полного объема фрагментации и вирсунголитоэкстракции. В целом, сочетание различных подходов в лечении ВЛ позволили достичь полной транспапиллярной санации панкреатического тракта у всех пациентов.

К осложнениям ретроградных транспапиллярных вмешательств можно отнести 1 (2%) интраоперационную перфорацию холедоха, возникшую при извлечении острых фрагментов конкремента, полученных при дроблении, корзинкой Дормиа. Осложнение было обнаружено и ликвидировано непосредственно во время вмешательства: установлен полностью покрытый саморасширяющийся билиарный стент с дальнейшим гладким клиническим течением и выпиской пациентки из стационара на 7 сутки. Стент был извлечен в плановом порядке через 1 месяц после процедуры. При контактном дроблении конкрементов вирсунгова протока клинически значимых осложнений не наблюдалось. Летальных случаев зафиксировано не было.

Выводы

Современные методики контактной внутрипротоковой литотрипсии при пероральной транспапиллярной холангиоскопии являются эффективным и перспективным вариантом минимально инвазивного лечения пациентов со «сложным» холедохо- и вирсунголитиазом В целом КЛ обладает высокой эффективностью и безопасностью, однако лазерные методики имеют преимущество перед электрогидравлической литотрипсией. Отечественный тулиевый лазер демонстрирует сопоставимые результаты по сравнению с зарубежными аналогами, а в ряде случаев превосходит их. Для успешного лечения данной сложной категории больных необходимо применять весь арсенал доступных методов малоинвазивной коррекции с возможностью этапной санации протоковых систем и комбинацией методик внутрипротоковой литотрипсии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Williams E., Beckingham I., El Sayed G., Gurusamy K., Sturgess R., Webster G., Young T. Updated guideline on the management of common bile duct stones (CBDS).*Gut*. 2017; 66 (5): 765-782. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312317.

2. Li G., Pang Q., Zhai H., Zhang X., Dong Y., Li J., Jia X. SpyGlass-guided laser lithotripsy versus laparoscopic common bile duct exploration for large common bile duct stones: a non-inferiority trial.*Surg. Endosc*. 2021; 35 (7): 3723-3731. DOI: 10.1007/s00464-020-07862-4.

3. Löhr JM, Dominguez-Munoz E, Rosendahl J, et al. United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis (HaPanEU). United European Gastroenterol J. 2017;5(2):153-199. doi:10.1177/2050640616684695

4. Han S, Miley A, Akshintala V, et al. Per-oral pancreatoscopy-guided lithotripsy vs. extracorporeal shock wave lithotripsy for treating refractory main pancreatic duct stones in chronic pancreatitis: Protocol for an open-label multi-center randomized clinical trial. Pancreatology. 2022;22(8):1120-1125. doi:10.1016/j.pan.2022.09.245,

5. Bick BL, Patel F, Easler JJ, et al. A comparative study between single-operator pancreatoscopy with intraductal lithotripsy and extracorporeal shock wave lithotripsy for the management of large main pancreatic duct stones. Surg Endosc. 2022;36(5):3217-3226. doi:10.1007/s00464-021-08631-7

6. Burhenne H.J. Electrohydrolytic fragmentation of retained common duct stones.Radiology. 1975; 117 (3): 721-723. DOI: 10.1148/117.3.721.

7. Fan S.T., Choi T.K., Wong J. Electrohydraulic lithotripsy for biliary stones.Aust. N.Z. J. Surg. 1989; 59(3): 217–221. DOI: 10.1111/j.1445-2197.1989.tb01504.x.

8. Binmoeller K.F., Brückner M., Thonke F., Soehendra N. Treatment of difficult bile duct stones using mechanical, electrohydraulic and extracorporeal shock wave lithotripsy.Endoscopy. 1993; 25 (3): 201-206. DOI: 10.1055/s-2007-1010293.

9. Tringali A., Costa D., Fugazza A., Colombo M., Khalaf K., Repici A., Anderloni A. Endoscopic management of difficult common bile duct stones: Where are we now? A comprehensive review.World J. Gastroenterol. 2021; 27 (44): 7597-7611. DOI: 10.3748/wjg.v27.i44.7597.

10. MLA style: The Nobel Prize in Physics 1964. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2024. Fri. 23 Feb 2024. https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1964/summary/

11. 105 лет со дня рождения лауреата нобелевской премии физика Александра Прохорова. Аполлонов В.В. Вестник РАЕН. 2021. Т. 21. № 4. С. 109-113

12. Lux G., Ell C., Hochberger J., Müller D., Demling L. The first successful endoscopic retrograde laser lithotripsy of common bile duct stones in man using a pulsed neodymium-YAG laser.Endoscopy. 1986; 18 (4): 144-145. DOI: 10.1055/s-2007-1018356.

13. Neuhaus H., Hoffmann W., Classen M. Laser lithotripsy of pancreatic and biliary stones via 3.4 mm and 3.7 mm miniscopes: first clinical results.*Endoscopy*. 1992; 24 (3): 208-214. DOI: 10.1055/s-2007-1010464.

14. Hochberger J., Bayer J., May A., Mühldorfer S., Maiss J., Hahn E.G., Ell C. Laser lithotripsy of difficult bile duct stones: results in 60 patients using a rhodamine 6G dye laser with optical stone tissue detection system.*Gut*. 1998; 43 (6): 823-829. DOI: 10.1136/gut.43.6.823.

15. Das A.K., Chiura A., Conlin M.J., Eschelman D., Bagley D.H. Treatment of biliary calculi using holmium: yttrium aluminum garnet laser.*Gastrointest. Endosc*. 1998; 48 (2): 207-209. DOI: 10.1016/s0016-5107(98)70167-1.

16. Ulvik Ø., Æsøy M.S., Juliebø-Jones P., Gjengstø P., Beisland C. Thulium Fibre Laser versus Holmium:YAG for Ureteroscopic Lithotripsy: Outcomes from a Prospective Randomised Clinical Trial.*Eur. Urol*. 2022; 82 (1): 73-79. DOI: 10.1016/j.eururo.2022.02.027.

17. Mutignani M., Dioscoridi L., Italia A., Forti E., Pugliese F., Cintolo M., Bonato G., Giannetti A., Massad M. Thulium laser to manage a difficult biliary lithiasis: a first case report.*Endoscopy.* 2020; 52 (3): E112-E113. DOI: 10.1055/a-0983-8278

18. Будзинский С.А., Шаповальянц С.Г., Федоров Е.Д., Воробьева Е.А., Свирин М.Ю., Маляров М.Г., Чернякевич П.Л., Платонова Е.Н. Первый опыт применения суперимпульсного волоконного тулиевого лазера для контактного разрушения камней общего желчного и главного панкреатического протока.*Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.*2021; 31 (2): 54-64. DOI: 10.22416/1382-4376-2021-31-2-54-64

19. Budzinskiy S. A., Shapovalyants S. G., Fedorov E. et al. The first case of pancreatoscopy-guided lithotripsy using a novel superpulsed fiberoptic thulium laser. Endoscopy. 2021. DOI 10.1055/a-1638-8915. – EDN VKRIRS.

20. Chen Y.K. Preclinical characterization of the Spyglass peroral cholangiopancreatoscopy system for direct access, visualization, and biopsy.*Gastrointest. Endosc.* 2007; 65 (2): 303-311. DOI: 10.1016/j.gie.2006.07.048

21. Maydeo A., Kwek B.E., Bhandari S,, Bapat M., Dhir V. Single-operator cholangioscopy-guided laser lithotripsy in patients with difficult biliary and pancreatic ductal stones (with videos).*Gastrointest. Endosc*. 2011; 74 (6): 1308-1314. DOI: 10.1016/j.gie.2011.08.047.

22. Bang J.Y., Sutton B., Navaneethan U., Hawes R., Varadarajulu S. Efficacy of Single-Operator Cholangioscopy-Guided Lithotripsy Compared With Large Balloon Sphincteroplasty in Management of Difficult Bile Duct Stones in a Randomized Trial.*Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2020; 18 (10): 2349-2356. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.02.003

ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИЧНОГО ЭФФЕКТА ПРИ АНАЛИЗЕ АНТИБИОТИКА ТЕТРАЦИКЛИНА В ПОЧВЕ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ – ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ (ЖХ-МС/МС)

Н.С. Антропова, А.В. Стрелецкий

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства, ул. Погодинская, д. 10, стр. 1, г. Москва, 191121, Российская Федерация

Введение

Как в России, так и в других странах, антибиотики используются не только в медицинских целях, но и в пищевой промышленности, животноводстве и птицеводстве для лечения и предупреждения заболеваний животных [1].

Лекарственные препараты, включая антибиотики, могут попадать в окружающую среду различными способами. Антибиотики обладают определенными физико-химическими свойствами, а также особенностями всасывания, распространения и выведения из организма как человека, так и животных. В зависимости от этого большая часть вводимых антибиотиков плохо адсорбируется в кишечнике и выводится из организма с мочой и фекалиями в виде исходных соединений или их метаболитов. Так, например, из организма животного выводится 65-90 % антибиотиков тетрациклиновых групп. В почву антибиотики попадают с навозом, используемым в качестве органического удобрения, а также со стоками животноводческих комплексов. Для улучшения почвенного состава в сельском хозяйстве могут использовать не только навоз, но и биосолиды - твердые органические материалы, обогащенные питательными веществами, полученные из бытовых сточных вод путём их фильтрации, в которых также могут быть обнаружены экстрагируемые антибиотики [2].

Бесконтрольное и некорректное использование антибиотиков, как в медицине, так и в животноводстве, является основной причиной развития устойчивости к антибиотикам [3]. По мнению Всемирной Организации Здравоохранения, антибиотикорезистентность представляет одну из главных угроз для общественного здравоохранения и безопасности на мировом уровне [4].

Количественное определение антибиотиков в различных матрицах требует применения передовых методов химического анализа, сочетающих в себе физическое разделение жидкостной хроматографией с масс-спектрометрией. Однако почва является одним из самых сложных объектов для хроматографического анализа, поскольку она

содержит большое количество природных органических веществ. Данные органические соединения могут быть экстрагированы из почвы вместе с анализируемым веществом, создавая мешающее влияние при анализе и вызывая так называемый «матричный» эффект.

При этом точное количественное определение антибиотиков и продуктов их трансформации имеет первостепенное значение для мониторинга поскольку имеются данные, свидетельствующие о том, что устойчивость бактерий к антибиотикам может развиваться под воздействием субингибирующих концентраций (т.е. микроколичества) [5].

В связи с этим **целью исследования** являлось установление природы матричного эффекта на примере анализа проб почвы, загрязненных антибиотиком тетрациклином (ТЦ).

Материалы и методы

Модельные исследования проводились на дерново-подзолистой почве с опытного поля «Немчиновка», Московская область с внесением антибиотика тетрациклина гидрохлорида и без (холостая проба).

Пробоподготовка почвенных образцов состояла из жидкостной экстракции буферным раствором ЭДТА-Макилвейна (pH 4,0) [6] с дополнительной очисткой методом твердофазной экстракции (ТФЭ) с помощью концентрирующих патронов Диапак ПГ (60 мг).

Жидкостную хроматографию проводили на системе ЖХ «Agilent 1290» (США) с масс-спектрометрическим детектором «Agilent 6430 (QQQ)». Для разделения компонентов использовали обращенно-фазовую колонку Zorbax SB-C18 (диаметр сорбента 1,8 мкм), 50 × 2,1 мм. Компоненты подвижной фазы были следующие: А - 0,1 % водный раствор муравьиной кислоты, Б - ацетонитрил. Расход подвижной фазы – 0,150 мл/мин. Длительность хроматографирования – 8 мин. Объем инжекции – 5 мкл. Температура колонки 30 °С. Хроматографическое разделение проходило в условиях градиента: подвижная фаза А 95% - 5% в течение 8 минут. Для количественного определения использовали режимы мониторинга множественных реакций - MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Для построения калибровочных кривых использованы стандартные образцы с заданным содержанием тетрациклина: 1 нг/мл; 10 нг/мл, 50 нг/мл ; 100 нг/мл ; 500 нг/мл ; 2500 нг/мл .

Результаты

На рисунке 1 представлены две хроматограммы ионного тока проб в различных средах (дистиллированная вода и экстракт почвы), содержащих тетрациклин с одинаковой

концентрацией 500 нг/мл. Площади хроматографического пика, регистрируемого ионного сигнала, существенно различаются. «Матричный» эффект проявляется в существенном снижении ионного сигнала аналита более чем в 2 раза при одинаковых условиях проведения анализа.

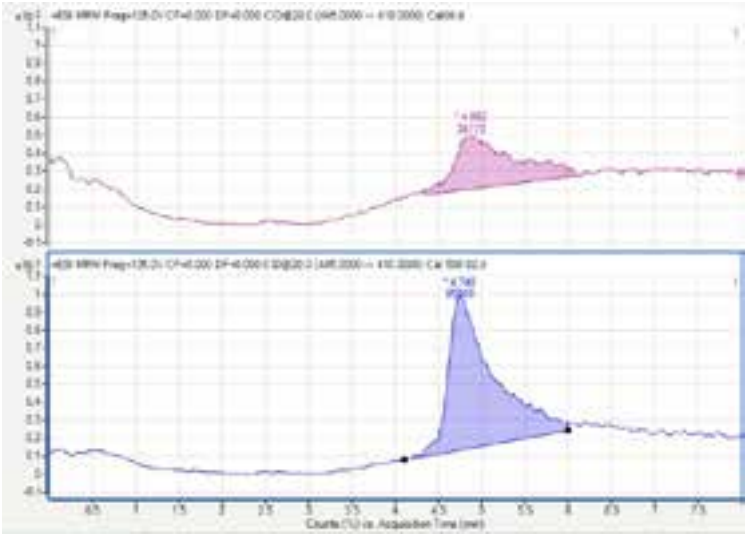


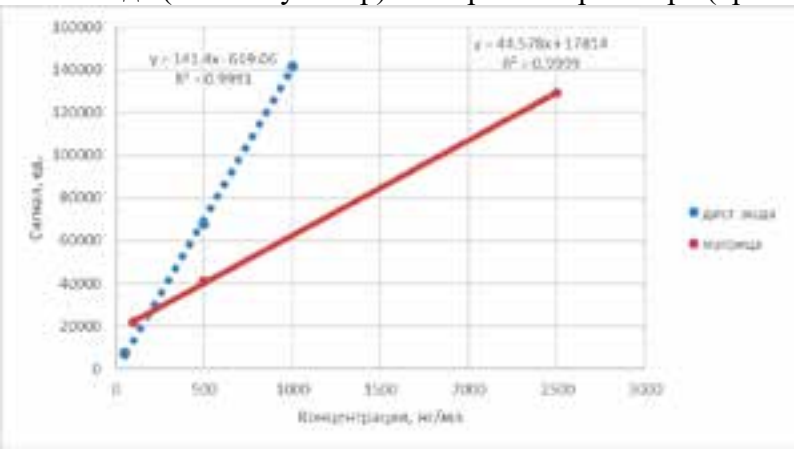
Рисунок 1. Хроматограммы тетрациклина с одинаковой концентрации 500 нг/мл, но в разных средах (матричный раствор – верхний, дистиллированная вода – нижний)

На основании данных зависимости площадей хроматографического пика тетрациклина от концентрации были построены соответствующие калибровочные кривые (рисунок 2) и получены численные характеристики чувствительности метода (таблица 1).

Таблица 1. Численные характеристики чувствительности метода ЖХ-МС/МС в воде и матричном растворе

Параметры	Матричный раствор	Дист. Вода
Предел обнаружения	100 нг/мл	1 нг/мл
Предел количественного определения	100 нг/мл	10 нг/мл
Аналитическая (линейная) область	100 нг/мл – 5000 нг/мл	10 нг/мл – 5 000 нг/мл

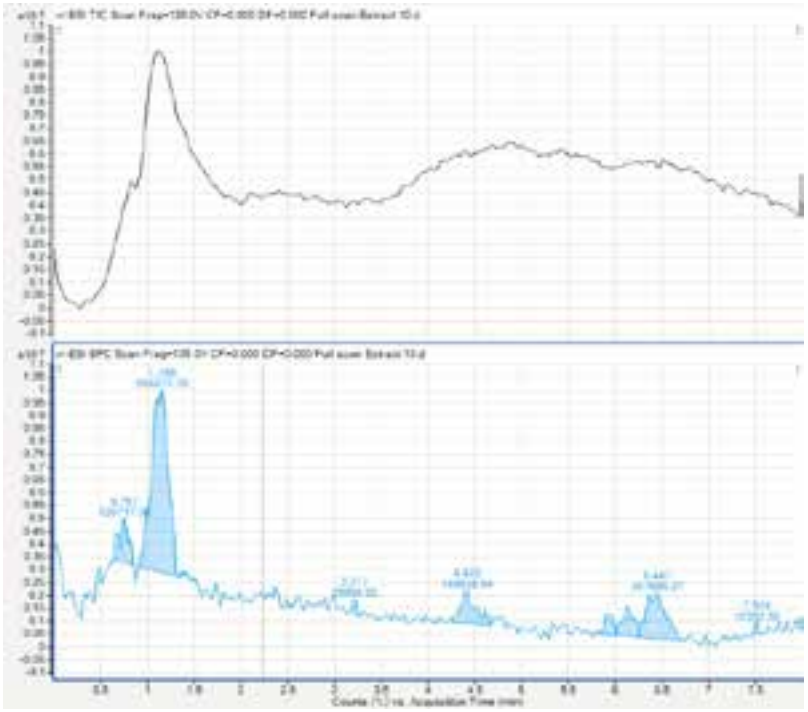
Рисунок 2. Калибровочные зависимости сигнала ионного тока от концентрации тетрациклина в чистой воде (синий пунктир) и матричном растворе (красный сплошной)



«Матричный» эффект оказывает существенный эффект на возможности обнаружения и количественного определения тетрациклина. Пределы обнаружения и количественного определения хуже на 1-2 порядка в «матричном» растворе, чем в дистиллированной воде. Причем «матричный» раствор был предварительно очищен от нежелательных примесей (как правило солевых соединений) твердофазной экстракцией (ТФЭ). Однако согласно экспериментальным данным используемый стандартный метод ТФЭ недостаточно избирателен по отношению к тетрациклину и наряду с антибиотиком в пробе остаются неизвестные вещества, присутствие которых и обуславливает возникновение «матричного» эффекта.

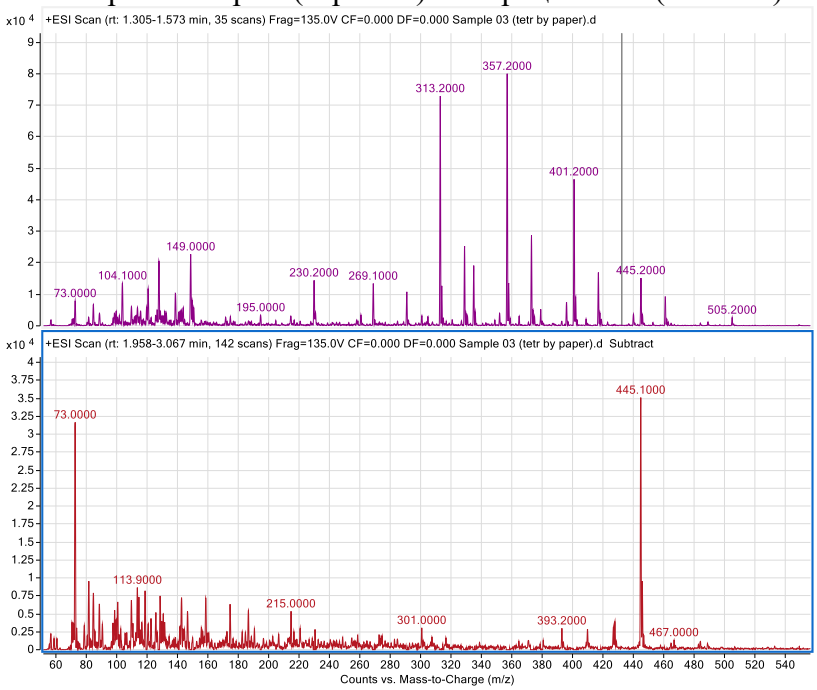
Для того, чтобы определить вещества в «матричном» растворе был проведен хроматомасс-спектрометрический анализ холостого образца (без тетрациклина). На рисунке 3 приведена хроматограмма полного ионного тока (*m/z* от 50 Да до 2000 Да) «матричного» раствора с выделенными программным обеспечением основными пиками.

Рисунок 3. Хроматограмма матричного раствора: общего ионного тока, TIC (верхний) и храмотограмма с базовыми пиками, BPC (нижний)



Оставив за рамки данного исследования интерпретацию каждого пика в хроматограмме «матрицы», мы обратили внимание на то, что общий регистрируемый масс-спектр фонового сигнала соответствует масс-спектрам доминантных пиков при времени удерживания 0,8 мин и 1,2 мин. Разница между пиками основных ионов составляет 44 ед., что может соответствовать мономерной единице этилен оксиду $–(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)\text{-}$. Пики наиболее интенсивных ионов m/z 313, 357, 401, 445 соответствуют молекулярным массам следующих соединений: $C_{12}H_{25}\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}OH$ и $C_{10}H_{25}\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}OH$. Более того, пик иона m/z 445 по массе совпадает с массой молекулярного иона тетрациклина в протонированной форме (см. рисунок 4). Последнее указывает на необходимость проведения масс-спектрометрического анализа в режиме тандемной масс-спектрометрии с целью повышения селективности сигнала для избежания регистрации ложноположительного сигнала.

Рисунок 4. Масс-спектры положительных ионов основного компонента «матрицы» этоксилированные жирные спирты (верхний) и тетрациклина (нижний)



Таким образом, можно полагать, что основным загрязнителем почвы, который не подается очистке в процессе экстракции, - этоксилированные жирные спирты (додеканола и деканола). Определяемые этоксилаты могут содержаться в различных продуктах, таких как моющих средствах и косметические продукты. В агрохимии этокислаты жирных спиртов используются как вспомогательное, неионогенное поверхностно-активное вещество, применяемое с гербицидами, для улучшения качества обработок сельскохозяйственных культур и сорных растений внекорневым способом.

В будущих исследованиях для уменьшения матричного эффекта будут применены различные подходы: дополнительная очистка пробы ТФЭ (тем же концентрирующим патроном или патроном другого типа); оптимизация условий ионизации тетрациклина путем изменения технических параметров (энергии соударения, напряжений фрагментатора и конуса, температур источника и десольватации, расходы газа), использование дополнительной предколонки.

Заключение

В настоящей работы показано насколько сильно может влиять присутствие загрязняющего вещества в почве или других органических соединений на обнаружение и количественное определение антибиотика тетрациклина. Применяемые методы твердофазной экстракции могут быть неэффективными для селективного выделения и концентрирования антибиотика из «матричной» среды. При таком методическом подходе

невозможна процедура валидации аналитических методик, использующих хромато-масс-спектрометрию для применения в мониторинге неизвестных образцов почвы. Поэтому считается важным при рутинном анализе образцов почвы предварительно установить общий характер их загрязнения, оценить степень его влияния на количественное определение целевого вещества.

В нашей работе показано, что присутствие в почве неионогенных поверхностно-активных веществ (этоксилированные жирные спирты) может существенно повлиять на количественное определение антибиотиков (тетрациклина), и для решения задачи обнаружения и количественного определения тетрациклина в малых концентрациях необходимы дополнительные методические подходы для устранения «матричного» эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чеснокова С.М., Космачева А.Г. Оценка фитотоксичности и опасности для окружающей среды антибиотиков, используемых в сельском хозяйстве // Инновационные пути решения актуальных. Проблем природопользования и защиты окружающей среды: Материалы докладов Международной научно-технической конференции. / Под редакцией: И.В. Старостина. Том III. Белгород: Белгородский государственный технологический университет им. В.Г. Шухова, 2018. С. 289-295.
2. Лаврухина О. И., Амелин В. Г., Киш Л. К. и др. Определение остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктов // Журнал аналитической химии. 2022. Т.77, №11. С. 969-1015. doi: 10.31857/S004445022211007X
3. Андони В.Г. Этические вопросы применения антибиотиков в животноводстве. Материалы 18-й международной научной конференции «Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века».17-18 мая 2018 г. РБ. Минск. 2018:173-174.
4. World Health Organization. Antimicrobial resistance. 2023. Доступно по https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance (Ссылка активна на 24 января 2024).
5. Циркунова Ж. Ф. и др. Влияние субингибирующих концентраций биоцидов на формирование адаптивной устойчивости клинических изолятов Klebsiella pneumoniae // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2022. №.3. С.30-39. doi:10.14427/jipai.2022.3.30
6. Poindexter C, Yarberry A, Rice C, Lansing S. Quantifying Antibiotic Distribution in Solid and Liquid Fractions of Manure Using a Two-Step, Multi-Residue Antibiotic Extraction. *Antibiotics*. 2022; 11(12):1735. https://doi.org/10.3390/antibiotics11121735

СОЗДАНИЕ ПРОГРАММНО-АППАРАТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ МИКРОКРОВОТОКА У ДЕТЕЙ С АСПЕКТАМИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

П.В. Бережанский[1,2]

[1]Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

[2]ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»

В структуре распространенности заболеваний среди детей раннего возраста сохраняется высокая распространенность обструктивных бронхитов, однако однородность клинических проявлений при обструктивном бронхите и других заболеваниях, характеризующихся нарушением бронхиальной проходимости, затрудняет раннюю верификацию диагноза, и как следствие, замедляет своевременное назначение адекватной патогенетической терапии. По имеющимся данным, более 80% случаев бронхиальной астмы (БА) у детей имеют начало в раннем возрасте, преимущественно до 3 лет, при этом клинически проявляясь повторными эпизодами бронхообструктивного синдрома на фоне респираторных инфекций [1].

Аллергические заболевания занимают лидирующую ступень в структуре заболеваемости во всем мире и характеризуются неуклонным ростом распространенности и нарастанием тяжести течения. На долю БА приходится до 14,6% от всех хронических заболеваний у детей [2]. Из определения бронхиальной астмы (БА) следует, что это гетерогенное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности, и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей. У детей раннего возраста БА высокую изменчивость клинических проявлений, что в свою очередь обусловлено их анатомо-физиологическими свойствами. Для каждого возрастного периода БА характерны свои особенности. Диагноз БА устанавливается на основании жалоб и анамнестических данных пациента, результатов функциональных методов обследования, специфического аллергологического обследования и исключения других заболеваний [3,4]. Важную роль в патогенезе БА играет и система микроциркуляции, оказывая влияние на реализацию и прогрессирование заболевания [5]. Структурные и функциональные нарушение в очаге и на периферии микроциркуляторного русла возникают вследствие циркуляции биологически активных веществ в кровеносном русле при хроническом воспалении [5-7]. Так же существует зависимость легочной гемодинамики от выраженности бронхообструкции и от фазы воспаления. К сожалению, по настоящий день состояние и

регуляции периферической микроциркуляции при бронхиальной обструкции мало изучены, однако существуют литературные данные, которые указывают на связь микрососудистого русла кожи не только с особенностями кровотока в том или ином органе, но и изменениями, происходящими во всем организме [8].

В настоящее время всем известны два современных метода оценки микроциркуляции, которыми являются капилляроскопия ногтевого ложа и лазерная доплеровская флоуметрия. Методы являются неинвазивными, что особенно важно в педиатрии. Более доступным методом оценки капилляров у детей является прямой метод оценки капилляров при помощи капилляроскопии ногтевого ложа [7]. Капилляроскопия ногтевого ложа представляет собой специализированную дерматоскопию проксимального отдела ногтевого валика, при которой падающий свет под острым углом позволяет «in vivo» визуализировать сосудистые структуры в поверхностной сосочковой дерме, тем самым подчеркивая капиллярную архитектуру. Нанесение связующей жидкости увеличивает прозрачность проксимального ногтевого валика и уменьшает поверхностное отражение [9].

Известно, что дети с отягощенным аллергоанамнезом имеют ряд морфологических изменений в микроциркуляторном русле в отличие от детей без отягощенного анамнеза. Так у детей с отягощенным аллергоанамнезом выявлены следующие изменения архитектоники в капиллярном русле: увеличение количества капилляров на единицу площади, повышение извитости капилляров и их поперечная деформация, а также изменение формы концевых капилляров («древовидные», «клубочкообразные», с двойным и одинарным перекрутом). Это в свою очередь влияет на векторные характеристики микрокровотока. Еще в данной группе детей отмечается снижение дифференцировки и упорядоченности капилляров на уровне второго и третьего эшелонов капилляров [8]. По мнению исследователей, выявленные нарушения архитектоники микрососудистого русла вызваны наличием аллергического воспаления и могут наблюдаться на этапе доклинических проявлений БА [10].

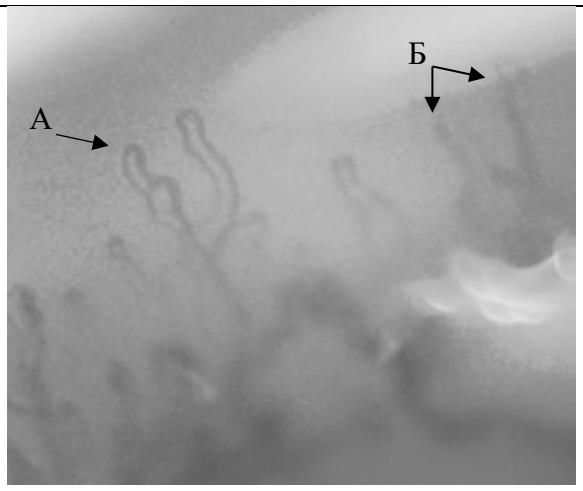
Капилляроскопия ногтевого ложа является неинвазивным методом визуализации для оценки микроциркуляции «in vivo» [11,12]. Доступность дерматоскопов, которые используются и в качестве капилляроскопа, привела к тому, что в настоящее время большая часть дерматологов использует капилляроскопию ногтевого ложа, особенно в условиях, когда она имеет признанную ценность при заболеваниях соединительной ткани и в том числе феномене Рейоно [11, 13, 14]. Однако, к сожалению, на сегодняшний день мало специалистов в области детской пульмонологии и аллергологии знакомы с важностью проведение капилляроскопии ногтевого ложа у детей, имеющих отягощенный аллергоанамнез.

Таким образом, БА является серьезной проблемой детской пульмонологии, а изменения в системе микроциркуляции играют важную роль в развитии и течении данного заболевания.

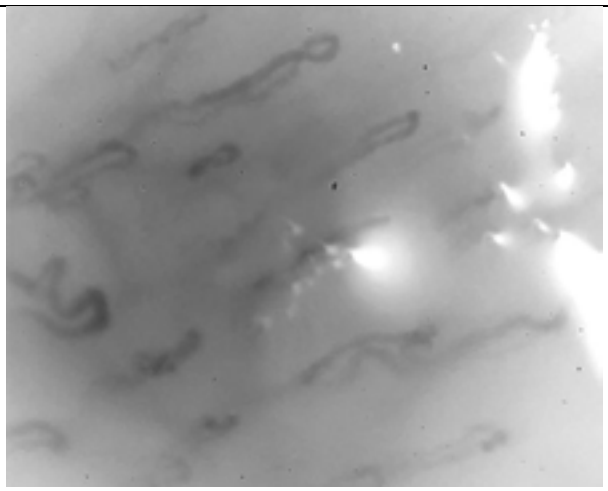
Компьютерная микроскопия капилляров ногтевого ложа является современным, безболезненным и доступным методом прямой визуализации капиллярного русла, позволяющая проводить детальную оценку состояния капилляров у детей и взрослых. Морфологическая оценка микроциркуляторного русла позволит качественно повысить уровень дифференциальной диагностики и прогноза БА у детей с отягощенным аллергоанамнезом.

Целью работы являлось создание программно-аппаратного комплекса визуализации микрокровотока для упрощения и повышения точности прогнозирования формирования бронхиальной астмы у детей раннего возраста, перенесших острый обструктивный бронхит.

В условиях пульмонологического отделения ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ», ГБУЗ МО «Одинцовской областной больницы» с 2019 года по 2023 года было обследовано 429 пациентов в возрасте от 1 до 7 лет. Все дети перенесли более одного эпизода обструктивного бронхита и находились в периоде ремиссии на протяжении 6 месяцев. Все дети были разделены на 2 группы: 1 группа – 217 детей (50,6%), с отягощенным аллергоанамнезом, 2 группы – 212 ребенок (49,4%), без отягощенного аллергоанамнеза. Всем детям проводилась оценка микроциркуляции при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса для визуализации микрокровотока у детей. На рисунке 1 представлены микрофотографии капилляров у детей в зависимости от отягощенности аллергоанамнеза.



Капилляроскопия ногтевого ложа ребенка 4 лет с острым обструктивным бронхитом. **А** - «древовидные» капилляры; **Б** – расширение артериальной части капилляра.



Капилляроскопия ногтевого ложа у ребенка 4 лет без отягощенного аллергоанамнеза, перенесшего однократно эпизод острого обструктивного бронхита.

Рисунок 1. Микрофотографии капиллярного русла у детей перенесших острый обструктивный бронхит в зависимости от отягощенности аллергоанамнеза

По результатам проведенной диагностики были выявлены следующие особенности: у детей 1 группы (пациенты с отягощенным аллергоанамнезом) определялись более выраженные морфологические изменения в капиллярном русле: изменение архитектоники, увеличение количества капилляров на единицу площади, изменение концевых капилляров (древовидные, клубочкообразные). У пациентов 2 группы (не имеющих отягощенный аллергоанамнез), напротив, капилляры имели четкую и упорядоченную форму. Выявленные изменения у пациентов 1 группы были обусловлены персистирующим аллергическим воспалением и гипоксией вследствие бронхообструкции. У детей, имеющих отягощенный аллергоанамнезбыли выявлены изменения ряда показателей в сравнении с детьми не имеющими отягощенный аллергоанамнез. Такие изменения характеризовались изменением коэффициента поперечной деформации параллельно идущих сосудов, соответственно в 1 группе – 0,32±0,4 у.е., во 2 групп –0,49±0,4 у.е., увеличением диаметра венулярной части капилляров, соответственно 54,3±4,1 мкм и 43,7±3,6 мкм; $p < 0,03$. Представленные изменения могли привести к снижению функции микрокровотока, что способствовало замедлению кровотока, увеличению биохимически активного параэндотелиальногопространства, нарушению перфузии и активации факторов минимального аллергического воспаления [15].

Выполнение всех исследований производилось на изобретенном программно-аппаратном комплексе для визуализации микроциркуляторного русла (Патент RU 164181 U1, от 20.08.2016). По теме работы получено 2 патента на изобретение (Патент RU 2646659 C1, 06.03.2018., патент 2789970 C1, 14.02.2023), зарегистрирована 1 база данных (База данных 2023620521, 08.02.2023).

Принцип действия аппаратного комплекса основан на формировании увеличенного изображения исследуемого объекта за счет увеличения угла зрения линзами. Исследуемый объект располагается перед объективом. Походя через систему линз объектива изображение объекта увеличивается. Увеличенное изображение объекта после объектива проецируется на светочувствительную матрицу. И при помощи чипа центрального процессора преобразуется в цифровой сигнал, который по USB кабелю либо Wi-Fi модулю передается на принимающий элемент (смартфон, планшетный компьютер или персональный компьютер). Где с помощью программы преобразуется в видеоизображение. Данное устройство предназначено для изучения сосудистых, внутрисосудичтых и межсосудистых характеристик капиллярного русла. Эффект исследования, с помощью данного устройства, достигается за счет оптического увеличения и отношения размеров светочувствительной матрицы к размеру изображения выводимого на экран монитора. Оптическое увеличение достигается за счет набора линз объектива и составляет кратность до 65Х, дальнейшее увеличение производится интерполяцией полученного изображения. В результате на экран выводится изображение с увеличением 450Х-600Х. На рисунке 2 показан принцип работы программно-аппаратного комплекса.

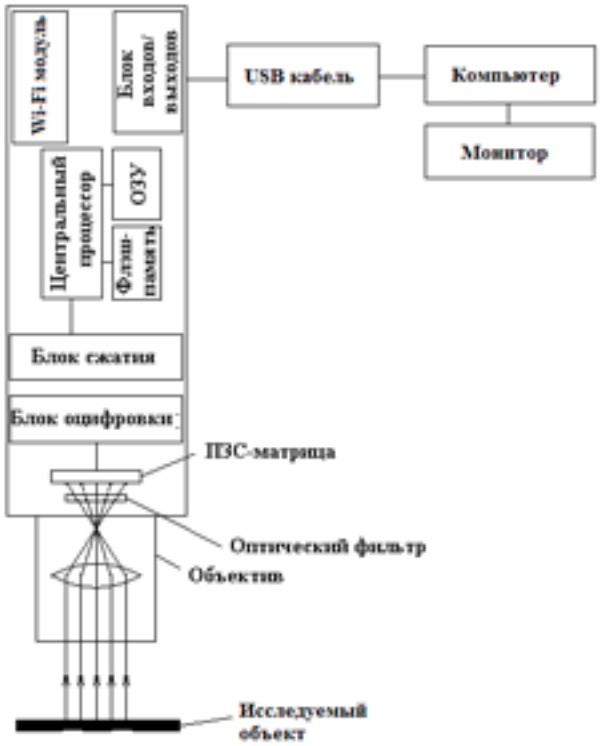


Рисунок 2. Принцип работы программно-аппаратного комплекса

Особенностью программно-аппаратного комплекса является возможность проводить измерения как в режиме отражения, так и «на проход». В режиме отражения чётко регистрируются спектральные характеристики микрокровотока в организме.

Измерение количественных характеристик основано на законе Ламберта-Бэра - поглощение света на определенной длине волны подчиняется экспоненциальной зависимости: $I= I0*exp(-kCd)$, где I и $I0$ —интенсивность света до и после прохождения через объект исследования (например, через мочку уха или палец руки), k — коэффициент, отвечающий поглощению объекта, C — концентрация измеряемого вещества в крови человека, d — толщина биологического объекта.

Корпус данного устройства имеет эргономичную компоновку, которая состоит из ручки и главной части. Головная часть и ручка жестко соединены с помощью сплавления, что дает необходимую прочность. Т.е. после данной операции получаем монолитную деталь. Корпус выполнен из гипоалергенного материала. В головной части корпуса размещены: оптические элементы, светочувствительная матрица, затемненное стекло, датчик измерения температуры. Техническое описание аппаратного комплекса представлено на рисунке 3.

Оптические элементы закреплены с помощью винтов на плате светочувствительной матрицы. Оптические элементы предназначены для увеличения исследуемого объекта.

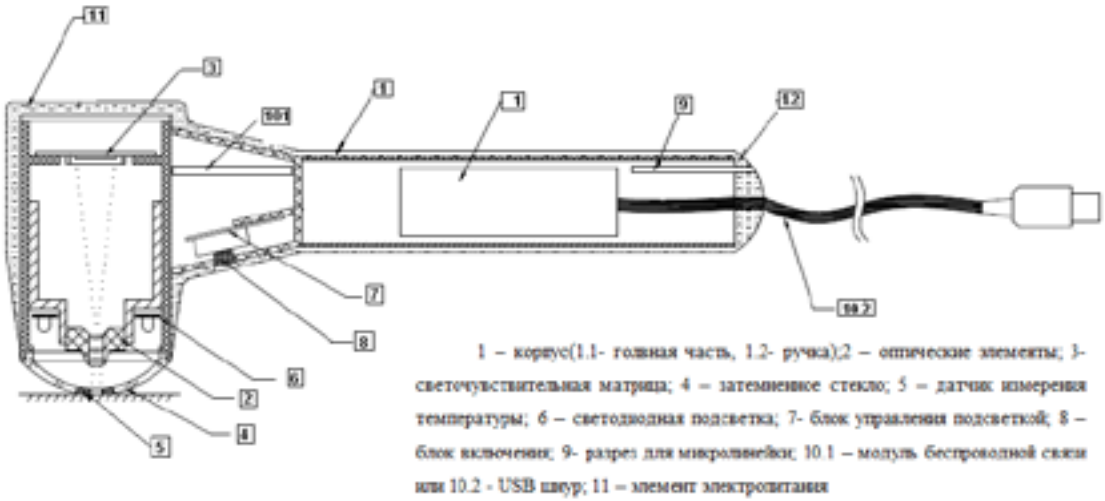


Рисунок 3. Техническое описание аппаратного комплекса

Светочувствительная матрица предназначена для преобразования оптического изображения в цифровой сигнал, и жестко закреплена в корпусе с помощью винтого соединения. На плате светочувствительной матрицы установлен чип микроконтроллера, для обработки сигнала светочувствительной матрицы и связи сигнала с принимающим устройством а также интерполяции изображения при цифровом увеличении до необходимых значений.

Затемненное стекло жестко связанно с корпусом с помощью клея, имеет центральное отверстие для исключения искажения исследуемого объекта, выполнена из гипоалергенного прозрачного пластика, имеет матовою поверхность, предназначена рассеивать концентрированный свет светодиодной подсветки, для равномерного освещения исследуемого объекта, а так же предназначено для фиксации рабочего расстояния от оптических элементов до исследуемой поверхности.

Датчик измерения температуры предназначен для корреляции данных. Крепится к центральному отверстию затемненного стекла с помощью клея.

Светодиодная подсветка предназначена для подсветки исследуемого объекта, состоит из зеленых и красных светодиодов в пропорции 1:2 . Крепится в головной части корпуса, под затемненным стеклом с помощью винтов.

Блок управления подсветкой предназначен для плавной регулировки освещённости исследуемого объекта. Устанавливается в головной части корпуса при помощи винтов. Блок включения находится на плате управления светодиодной подсветки и предназначен для безопасного отключения устройства от персонального компьютера.

В головной части корпуса имеется щелевидное отверстие прямоугольной формы размеры которого могут быть от 10 до 20 мм, в которое вставляется микролинейка для колибровки масштаб получаемого изображения.

Модуль беспроводной связи или USB-шнур предназначены для передачи цифрового сигнала на ПК. Элемент питания предназначен для автономной работы устройства при работе с модулем беспроводной связи. Элемент питания размещен в ручке корпуса и соединён с блоком включения проводом.

Прибор в нижней части затемненного стекла планируется оснастить пульсоксиметрическим датчиком для непрерывного мониторинга насыщения капиллярной крови кислородом. Генерация волн планируется на низкой длине волны, на которых другие пульсоксиметры не работают, так как в меньшем объеме гемоглобин меньше поглощает света и даст более высокие показатели чувствительности.

На рисунке 4 представлена рабочая 3d модель аппаратного комплекса для визуализации микрокровотока.

Рисунок 4. 3d модель аппаратного комплекса

Для проведение исследования на разработанном устройстве была написана программа для персонального компьютера, которая позволяет производить все необходимые для капилляроскопии измерения (платформа разработки ASP.net, база данных MSSQL).

. При проведении измерения в нижней части экрана отображаются подсказки. В настройках программы возможно произвести индивидуальные настройки параметров изображения для удобства проведения обследования и измерения.

Все измерения и манипуляции с изображение происходят на новом слое, т.е. оригинал снимка остается неизменным и всегда доступен для повторного исследования. В программе реализован оригинальный и надежный метод измерения скорости кровотока и других динамических параметров. В программе возможно откалибровать масштаб индивидуально для каждого снимка, что делает возможным не быть привязанным к конкретной оптической базе и разрешению.

В программе возможно определять статические измерения на фиксированных изображениях, а так же динамические измерения в режиме записи видео.Обследования отображаются в удобной для врача ленте с комментариями. Поддерживается возможность загрузки в базу данных изображений полученных из других источников для их дальнейшего анализа и уточнения диагноза. Заключение об обследовании генерируется автоматически с возможностью распечатки на принтере или сохранения в виде файла PDF. Поддерживается выгрузка данных в Excel для их дальнейшего анализа. На рисунке 5 показан рабочий функционал проведения исследования в программе.

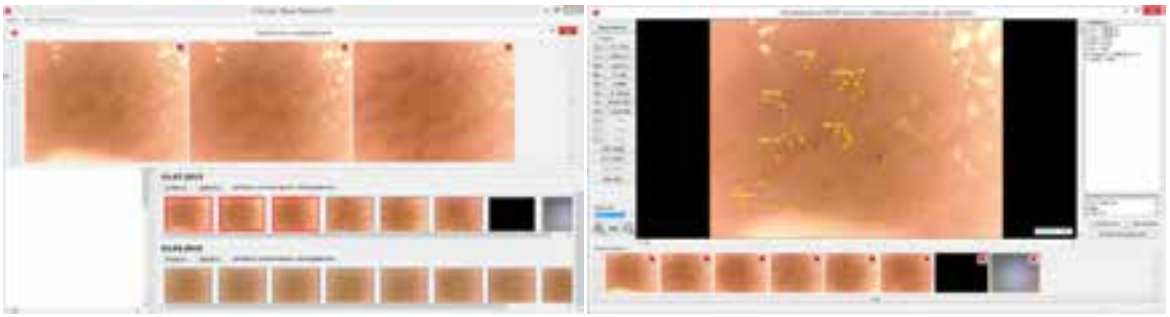


Рисунок 5. Рабочая области программного продукта

Перечень измеряемых параметров: Неравномерность калибра артериальной, венозной части капилляров и собственно капилляров (min и max); коэффициент извитости артериальной части капилляров; коэффициент извитости венозной части капилляров; артериоло-венулярный коэффициент; коэффициент ремоделирования сосудистого русла; расстояние между капиллярами; диаметр приводящей и отводящей части капилляров; расстояние между артериальной и венозной частью капилляров; общий коэффициент поперечной деформации капилляров; скорость кровотока в капиллярном русле; скорость кровотока в коллатералях; степень стаза; определение лейкоцитарно-тромбоцитарного индекса; наличие и площадь геморрагий; наличие и площадь отека; протяженность периваскулярной зоны.

Таким образом, БА является одним из распространенных хронических заболеваний детского возраста, нарушающей качество жизни ребенка. У детей, перенесших повторный эпизод острого обструктивного бронхита на фоне отягощенного аллергоанамнеза имеются стойкие нарушения в микроциркуляторном русле: изменение формы и плотности капиллярной сети, диаметра и длины капилляров. Выявленные изменения могут являться патогенетической основой для персестенции минимального аллергического воспаления в данной группе детей.

Для решения данной задачи был разработан программно-аппаратный комплекс для проведения оценки микроциркуляторного русла, который так же может быть применим в будущем и при других нозологиях.

Ранняя оценка микроциркуляторного русла может являться дополнительным методом диагностики у пациентов с повторными эпизодами бронхообструкции, особенно на фоне отягощенного аллергоанамнеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мизерницкий Ю.Л., Павленко В.А., Мельникова И.М.. Клинико-функциональные критерии прогноза бронхиальной астмы в раннем детском возрасте. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015; 4:82–88.
2. Mallol J., Crane J., von Mutius E., Odhiambo J., Keil U., Strewart A., ISAAC Phase Three Study Group. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis. Allergologia et Immunopathologia. 2013. Vol. 41, no. 2. P.73-85.
3. Клинические рекомендации. Бронхиальная астма. Разработано российским респираторным обществом, российской ассоциацией аллергологов и клинических иммунологов, союзом педиатров России. Одобрено Научно-практическим Советом Минздрава РФ. [Электронный ресурс].URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/359_2 (год утверждения: 2021).
4. Ганузин В.М., Черная Н.Л., Маскова Г.С. Особенности врачебной профессиональной консультации подростков с бронхиальной астмой: клинические наблюдения. Доктор.Ру. 2022: 19 (3). с. 57-60.
5. Kasperska-Zajac A., Brzoza Z., Rogala B. Platelet activating factor as a mediator and therapeutic approach in bronchial asthma. Inflammation. 2008. Vol. 31 no. 2. P.112-120.
6. Wanner A., Mendes E.S. Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a challenge for future research. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2010. Vol. 182 no. 11. P.1344-1351.
7. Hafkamp-de Groen E., Lingsma H.F., Caudri D., Levie D., Wijga A., Koppelman G.H., Duijts L., Jaddoe V.W. V, Henriëtte A.S., Kerkhof M., Henriëtte A. Moll, Hofman A., Steyerberg E.W., Jongste J.C., Raat H. Predicting asthma in preschool children with asthma-like symptoms: validating and updating the PIAMA risk score. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2013. Vol. 132 no. 6. P.1303-1310.
8. Бережанский П.В., Гутырчик Т.А., Малахов А.Б., Коваленко И.В., Елагина В.И., Татаурщикова Н.С., Гутырчик Н.А., Шапиев А.Н. Изменение микроциркуляторного русла при проведении капилляроскопии у детей в зависимости от отягощенного аллергоанамнеза. Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 3.URL: https://science-education.ru/article/view?id=31713 (дата обращения: 21.01.2024).

9. Braverman I.M. The cutaneous microcirculation. Journal of investigative dermatology symposium proceedings. 2000. Vol. 5, no. 1. P.3-9.
10. Barnes, P. J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J. Clin. Invest. 2008: 118 (11). P. 3546-3556.
11. Cutolo M. Capillaroscopy in rheumatic diseases from the XVIII to the XXI centry. In: Cutolo M, editor. Atlas of Capillaroscopy in RheumaticDiseases. Vol. 1. Milano: Elsevier; 2010. p. 3-5.
12. Müller-Ladner U. Raynaud's Phenomenon and Peripheral Ischemic Syndromes. 1st ed. Bremen: UNI-MED Verlag AG; 2008. p. 36-41.
13. Cutolo M., Smith V. Nailfold capillaroscopy. Scleroderma: From Pathogenesis to Comprehensive Management. New York: Springer Science Business Media, LLC; 2012. p. 331-46.
14. Grover C, Jakhar D. Onychoscopy: A practical guide. Indian J Dermatol VenereolLeprol2017; 83:536.
15. Бережанский П.В., Гутырчик Т.А., Малахов А.Б., Коваленко И.В., Гутырчик Н.А., Дустбабаева Н.Д. Особенности изменений в микроциркуляторном русле у детей с отягощенным аллергоанамнезом. Педиатрия. Consilium Medicum. 2022. № 4. С. 344-348.

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ПРОГНОЗА ГОСПИТАЛЬНОЙ СМЕРТНОСТИ БОЛЬНЫХ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ИНДЕКСОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

И.Ф. Боковиков

научный руководитель - д.м.н., профессор К.В. Протасов

Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

Введение

Клеточные индексы системного воспаления – отношения, рассчитанные по показателям периферической крови,– широко используются для оценки прогноза в силу их доступности и простоты в реальной клинической практике и тяжести инфекционных заболеваний, новообразований, заболеваний нервной системы [1, 2, 3], например, нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (НЛО), нейтрофильно-моноцитарное отношение (НМО) [4], тромбоцитарно-лимфоцитарное отношение (ТЛО) [5] и моноцитарно-лимфоцитарное отношение (МЛО) [5], индекс системного иммунного воспаления (SII), индекс системной воспалительной реакции (SIRI) [7, 7].

Многочисленные исследования показали, что сахарный диабет 2-го типа (СД 2) – это провоспалительное состояние [8], что является одной из причин повышения сердечно-сосудистого риска у больных СД 2, в том числе при остром инфаркте миокарда (ИМ). В ряде исследований изучались клеточные индексы воспаления при СД 2 [9]. Сравнительный анализ прогностического значения клеточных индексов воспаления в оценке риска госпитальной летальности больных ИМ в сочетании с СД 2 ранее не проводился. Это и определило **цель данной работы:** оценить значимость клеточных индексов воспаления в прогнозе госпитальной летальности пациентов с ИМ в сочетании с СД 2.

Материалы и методы

По своему дизайну это было ретроспективное одноцентровое исследование по типу «случай-контроль». Были включены пациенты с ИМ с подъёмом сегмента ST электрокардиограммы (ИМпST) и СД 2, поступивших на лечение в период с 2018 по 2020 гг. Критерии включения: возраст от 45 до 75 лет, верифицированный ИМпST, первичное чрескожное коронарное вмешательство (пЧКВ). Критерии исключения: случаи госпитальной летальности в первые 48 часов, кардиогенный шок при поступлении, отсутствие проведения диагностической коронароангиографии, преходящая гипергликемия, новая коронавирусная инфекция, госпитальная пневмония.

Всем пациентам проведены трансторакальная эхокардиография с оценкой фракции выброса левого желудочка, при поступлении и через 48 – 72 часа после пЧКВ. Оценивали антропометрические данные. Учитывали при поступлении и в динамике через 48 - 72 часа после пЧКВ уровень высокочувствительного тропонина Т, концентрацию глюкозы, высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ), креатинина.

У всех пациентов при поступлении и через 48-72 часа определяли количество лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов в крови (гематологический анализатор BC-6800Plus, "Mindray", Китай) и производили расчёт клеточных индексов воспаления: НЛО, НМО, ТЛО, МЛО, SII, SIRI. Данные индексы вычисляли следующим образом: НЛО – нейтрофилы, $10/^{9}$л / лимфоциты, $10/^{9}$л; НМО - нейтрофилы, $10/^{9}$л / моноциты, $10/^{9}$л; ТЛО – тромбоциты, $10/^{9}$л / лимфоциты, $10/^{9}$л; МЛО - моноциты, $10/^{9}$л / лимфоциты, $10/^{9}$л; SII - (тромбоциты, $10/^{9}$л × нейтрофилы, $10/^{9}$л) / лимфоциты, $10/^{9}$л; SIRI - (нейтрофилы, $10/^{9}$л × моноциты, $10/^{9}$л) / лимфоциты, $10/^{9}$л [7, 11]. Рассчитывали степень их изменения между первым и вторым измерением.

Прогностическое значение исследуемых показателей изучали методом «случай-контроль». С этой целью из общей выборки (313 пациентов с ИМпST и СД 2) по критериям включения и исключения в группу «случаев» включены 25 пациентов, умерших в период госпитализации (медиана выживаемости (Me): 6 (3;22) дней). В группу «контролей» включены выжившие пациенты с ИМпST и СД 2, сходных полу и возрасту, из расчёта 4:1. Таким образом, общее количество пациентов, включенных в исследование, составило 125 (68 мужчин и 57 женщин).

На первом этапе ассоциации изучаемых показателей с развитием летального исхода определяли с помощью однофакторной логистической регрессии с расчетом отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ) развития события при изменении предиктора на единицу. На втором этапе для выявления совокупности независимых предикторов летального исхода проводили многофакторный пошаговый регрессионный анализ. С помощью ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic) строили ROC-кривую, рассчитывали площадь под кривой (AUC - area under curve) для скорректированной многофакторной модели.

Получено информированное согласие пациентов на проведение вмешательства. В изучаемых группах рассчитывали и сравнивали средние значения или доли (%) вышеуказанных показателей. Использовали непараметрические методы статистики. Средние значения отображали в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (ИР). Статистическую значимость различий в группах оценивали по U-критерию Манна-Уитни,

критерию согласия Пирсона (хи-квадрат, χ^2). Применяли пакеты прикладных программ «Statistica 8.0», «IBM SPSS Statistic 26».

Результаты

В анализ включено 125 человек. Средний возраст составил 65 (61 – 69) лет. Клиническая характеристика исследуемых групп представлена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с ИМпST и СД 2

Показатель	Группа случаев госпитальной летальности (n=25)	Группа выживших (n=100)	ОШ [95% ДИ]$^{\alpha}$	p$^{\$}$
Мужчины/женщины, n (%)	14/11 (56/44)	54/46 (54/46)	1,08[0,45-2,62]	0,858
Возраст, годы	67,0 (62 - 69)	65,0 (59 – 70)	1,01[0,95-1,09]	0,702
Индекс массы тела, кг/м^2	34,5 (31,1; 37,2)	29,4 (26,5; 34,3) *	1,18[1,07-1,3]	0,001
вчТр Т при поступлении, мкг/л	1,3(0,5;2,5)	1,8 (0,2; 2,5) *	1,00[0,88-1,14]	0,978
Креатинин при поступлении, мкмоль/л	115,4(102;119)	101,9(89;119) *	1,01[0,99-1,03]	0,194
вчСРБ, г/л				
-при поступлении	26,0(21;37)	21,5(13,35;29,4)	1,01[0,99-1,03]	0,092
-в динамике	17,0(14;54,7)	10,6(7,2;16) *	1,03[1,003-1,05]	0,029
ΔСРБ	-9,5(-15;0,2)	-9,8(-15; -5,4)	1,03[1,003-1,05]	0,025
Глюкоза плазмы крови при поступлении, ммоль/л	11,3(8,7;14,7)	10,9(8,6;14,2)	1,02[0,93-1,13]	0,649
Фракция выброса левого желудочка, %	39,0(34;44)	45,5(41;49)*	0,9[0,84-0,97]	0,005
Количество имплантированных стентов			4,58[2,04-10,29]	<0,001
1	10 (40,0)	82(82,0)†		
2	13 (52,0)	16 (16,0)		
3	2 (8,0)	2 (2,0)		
Индекс Killip при поступлении			2,0[1,04-3,85]	0,038
I	17 (68,0)	85(85,0)		
II	4 (16,0)	10 (10,0)		
III	4 (16,0)	5 (5,0)		

Примечание: данные представлены в виде Me (ИР) или абсолютного количества (n) и доли в %; * - p <0.05 для межгрупповых различий средних значений; $ -уровень значимости p предиктора по критерию Вальда; α - ОШ и 95%ДИ развития события при изменении предиктора на единицу; † - p χ^2 Пирсона <0,05.

Сокращения: вчТр Т – высокочувствительный тропонин Т, ДИ – доверительный интервал, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок, ИМпST – инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST, ОШ – отношение шансов.

Из таблицы следует, что в группе умерших индекс массы тела (ИМТ) и вчСРБ в динамике были больше, а фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) – меньше, чем в группе выживших. По результатам однофакторной регрессии госпитальная летальность была ассоциирована с ИМТ, динамикой вчСРБ, ФВ ЛЖ, количеством имплантированных стентов и тяжестью сердечной недостаточности по Killip.

В таблице 2 приведены клеточный состав крови и клеточные индексы воспаления, определяемые в момент поступления, на третьи сутки, а также степени их изменения, рассчитанные между первым и вторым измерением.

Таблица 2

Клетки крови и клеточные индексы воспаления у пациентов с ИМпST и СД 2

Показатель	Группа случаев госпитальной летальности (n=25)	Группа выживших (n=100)	ОШ [95% ДИ]$^{\alpha}$	p$^{\$}$
НЛО				
-при поступлении	4,6(3,5;5,6)	4,3(2,5;5,5)	0,99[0,85-1,18]	0,994
-в динамике	5,6(4,6;6,7)	2,7(2,1;3,2)*	2,56[1,73-3,78]	<0,001
ΔНЛО	0,7(-0,3;1,9)	-1,4(-3; -0,2)*	1,58[1,21-2,06]	0,001
НМО				
-при поступлении	8,7(6,8;13,3)	9,8(7,4;15,6)	0,98[0,93-1,03]	0,345
-в динамике	6,8(6,2;8,4)	6,5(5,4;8,01)*	1,16[1,001-1,35]	0,048
ΔНМО	-0,6(-6,04;1,01)	-3,4(-8,9;-0,6)*	1,09[0,998-1,19]	0,055
МЛО				
-при поступлении	0,5(0,3;0,7)	0,3(0,2;0,6)	2,83[0,83-9,67]	0,097
-в динамике	0,5(0,4;0,8)	0,4(0,3;0,5)*	23,66[3,07-182,55]	0,002
ΔМЛО	0,01(-0,2;0,4)	0,03(-0,2;0,2)	2,36[0,71-7,78]	0,159
ТЛО				
-при поступлении	127,5(91;138,9)	115,4(85,4;149,6)	0,997[0,988-1,01]	0,556
-в динамике	114,5(85,5;151,2)	119,6(94,6;161,5)	1,004[0,998-1,01]	0,204
ΔТЛО	-2,4(-14,9;34,4)	4,5(-14,9;32,2)	1,01[0,99-1,011]	0,113
SII				
-при поступлении	916,5(703;1312)	902,7(665;1324)	1,00[0,999-1,001]	0,783
-в динамике	698,5(506;861)	627,7(426;855)	1,001[1,0-1,001]	0,028
ΔSII	-245,7(-565; -68)	-277,9(-627;11)	1,001[1,0-1,001]	0,028
SIRI				
-при поступлении	5,1(3,4;7,1)	3,1(1,5;5,6)	1,06[0,973-1,16]	0,171
-в динамике	3,5(2,3;5,9)	2,1(1,6;2,9)*	1,29[1,09-1,52]	0,003
ΔSIRI	-0,8(-3,3;1,1)	-0,9(-3;0,5)	1,09[0,995-1,19]	0,063

Примечание: данные представлены в виде Me (ИР) или абсолютного количества (n) и доли в %; * - p <0.05 для межгрупповых различий средних значений; $ -уровень значимости p предиктора по критерию Вальда; α - ОШ и 95%ДИ развития события при изменении предиктора на единицу; Δ – степень изменения.

Сокращения: НЛО – нейтрофильно-лимфоцитарное отношение, НМО – нейтрофильно-моноцитарное отношение, МЛО – моноцитарно-лимфоцитарное отношение, ТЛО- тромбоцитарно-лимфоцитарное отношение, SII – индекс системного воспаления, SIRI – индекс системного воспалительного ответа, ДИ – доверительный интервал, СД 2 типа – сахарный диабет 2 типа, ИМпST – инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST, ОШ– отношение шансов.

Как видно из таблицы, среди изучаемых клеточных индексов по результатам однофакторной логистической регрессии с летальным исходом были ассоциированы вчСРБ, НЛО, НМО, МЛО, SII, SIRI через 48-72 часа после поступления, а также степень изменения вчСРБ, НЛО и SII.

Вышеперечисленные показатели были пошаговым способом включены в многофакторный логистический регрессионный анализ. Всего таким образом в анализ включено 9 ковариат. По результатам анализа получена совокупность независимых предикторов, обеспечивающая наибольшую точность оценки вероятности летального исхода у больных ИМпST и СД 2 (табл. 3).

Таблица 3

Отношения шансов развития летального исхода у пациентов с ИМпST и СД 2 в скорректированных и нескорректированных моделях

Предиктор	Модель 1		Модель 2		Модель 3	
	ОШ [95% ДИ]	p	ОШ [95%ДИ]	p	ОШ [95% ДИ]	p
ΔвчСРБ	1,05[1,02-1,08]	0,004	1,04[1,00-1,07]	0,028	1,04[1,01-1,08]	0,017
НЛО в динамике	6,97[3,05-15,95]	<0,001	7,95[2,76-22,9]	<0,001	8,74[2,28-33,48]	0,002
SII в динамике	0,99[0,992-0,998]	<0,001	0,99[0,991-0,998]	0,001	0,99[0,991-0,998]	0,006
SIRI в динамике	1,26[1,07-1,49]	0,006	1,32[1,1-1,58]	0,003	1,39[1,12-1,71]	0,003
ИМТ	-	-	1,26[1,02-1,56]	0,035	1,26[1,02-1,56]	0,035
Количестве имплантированных стентов	-	-	-	-	6,57[1,34-32,2]	0,02

Примечание: Модель 1 – без поправки, -2 Log правдоподобия = 43,699, R^2 Нэйджелкерка 0,757; модель 2 – с поправкой на пол, возраст и ИМТ; -2 Log правдоподобия = 38,214, R^2 Нэйджелкерка 0,792; модель 3 - с поправкой на пол, возраст, ИМТ, креатинин при поступлении, ФВ ЛЖ, количество имплантированных стентов и тяжесть сердечной недостаточности по Killip; -2 Log правдоподобия = 32,564 R^2 Нэйджелкерка 0,827; ΔвчСРБ – степень изменения вчСРБ.

При проведении многофакторного регрессионного анализа без поправки (модель 1) были определены следующие предикторы летального исхода - НЛО, SII и SIRI в динамике, а также степень изменения вчСРБ. После поправки на пол, возраст и ИМТ (модель 2), на пол, возраст, ИМТ, креатинин крови, ФВ ЛЖ, количество имплантированных стентов и

тяжесть сердечной недостаточности по Killip (модель 3) найденные предикторы, а также ИМТ и количество имплантированных стентов сохранили свое предсказательное значение.

Для оценки информативности скорректированной модели прогноза и для определения порогового значения логистической регрессионной функции были построены ROC-кривая и рассчитана AUC (рис. 1).

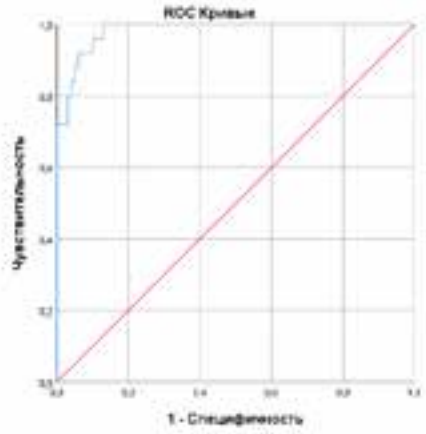


Рисунок 1. ROC-кривая и площадь под кривой для прогностической модели 3

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза летального исхода и значения логистической регрессионной функции, составила 0,982±0,009 с 95% ДИ 0,965-0,999 ($p<0,001$), что соответствует отличной информативности классификатора. Пороговое значение функции P(1) в точке cut-off составило 0,159. Значение функции, равное или превышающее данное значение, соответствовало высокому риску летального исхода. Чувствительность и специфичность метода составили 76,0% и 97,0% соответственно, точность модели 0,928. Корректировка порога классификации исходя из результатов анализа ROC-кривой позволила увеличить чувствительность с 76% до 92%.

Обсуждение

В данном исследовании мы оценили клеточные гематологические индексы системного воспаления у пациентов с ИМпST в сочетании с СД 2 и изучили их возможную связь с госпитальной летальностью. При поступлении различия всех изучаемых индексов и клеточных показателей воспаления (кроме моноцитов в группе умерших) отсутствовали. На третьи сутки течения ИМ в обеих группах расчетные клеточные индексы уменьшились, за исключением НЛО, что свидетельствует о снижении степени активности воспаления на третьи сутки после реваскуляризации миокарда. Однако степень снижения вчСРБ, НЛО и SII была более выраженной в группе выживших пациентов, а уровни вчСРБ, НМО, МЛО, MHR, SII, SIRI на третьи сутки были выше в группе умерших. Все это указывает на замедленный темп снижения активности воспаления в группе госпитальной летальности. Первоначальный провоспалительный ответ не переходит в противовоспалительную репаративную фазу, что приводит к усилению повреждения и ремоделирования миокарда

и увеличивает риск неблагоприятного исхода [12]. Индекс ТЛО статистически значимо в изучаемых группах не различался.

Результаты многофакторного регрессионного анализа и ROC-анализа позволили выявить совокупность независимых предикторов госпитальной летальности пациентов с ИМ и СД 2. Как оказалось, наибольшей прогностической значимостью обладают 3 расчетных клеточных индекса (НЛО, SII, SIRI через 48-72 часа от начала госпитализации), а также степень изменения вчСРБ через 48-72 часа, количество имплантированных стентов и ИМТ. Предсказательная ценность модели не снижалась при включении таких известных предикторов риска смерти от ИМ, как ФВ ЛЖ, креатинин крови, класс Killip при поступлении, количество имплантированных стентов, что указывает на самостоятельное прогностическое значение изучаемых расчетных индексов. Созданная математическая модель позволяет с высокой точностью (AUC=0,982) оценить вероятность развития летального исхода у пациента с ИМпST в сочетании с СД 2-го типа на госпитальной этапе. Прогностическое значение клеточных индексов воспаления при ИМ изучалось в ряде ранее опубликованных работ. В одном из исследований было показано, что значение индекса системной воспалительной реакции (SIRI) ≥7,80 было связано с более высокой частотой (17,1%, p<0,001) развития больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных ИМпST, перенёсших пЧКВ (n=328), в первые 30 дней [13]. В исследовании Zhenjun Ji. et al. (2021) была отмечена способность НЛО предсказывать госпитальную летальность у пациентов с ИМ в возрасте <76 лет при значении >5,509 (ОШ 4,356; ДИ 2,552-7,435; p<0,001) [13]. Более высокие значения SII были независимо связаны с 30-дневной сердечно-сосудистой смертностью (ОШ 2,37, 95% ДИ 1,34-4,19, p = 0,003) у пациентов с ИМпST после пЧКВ [15]. Zhang X. et al. (2021) была отмечена прогностическая роль вчСРБ у пациентов с острым ИМ вне зависимости от установленных традиционных факторов риска [16]. В вышеприведенных работах, в отличие от данного исследования, были пациенты с ИМпST и без СД 2, а динамические изменения индексов в первые двое суток не учитывались. Следует также отметить, что по нашим данным прогноз госпитальной летальности точнее оценивается при их определении на 3 сутки течения ИМ, тогда как в большинстве работ по данной теме клеточные индексы определялись в первые сутки ИМ [13, 13, 15, 16, 17]. Значимость в оценке прогноза клеточных индексов воспаления летального исхода у больных ИМ и СД 2 исследовалась в единичных работах. В частности, в качестве предиктора неблагоприятного исхода у больных ИМ и СД 2 изучался клеточный индекс Гаркави [17]. По другим данным риск развития летального исхода у пациентов с СД 2 в группе с НЛО> 5,509 оказался в 6,6 раза выше, чем в группе с низким уровнем НЛО (95% ДИ 2,625-16,522, p<0,001), однако это были пациенты с ИМ

без подъёма сегмента ST [15]. Роль новых клеточных индексов воспаления SII и SIRI в прогнозе госпитальной летальности у больных ИМпST и СД 2 в доступной нам литературе не отражена.

Таким образом, по результатам работы впервые установлена высокая информативность совокупности простых и доступных в реальной клинической практике клеточных индексов воспаления НЛО, SII, SIRI в прогнозе госпитальной летальности больных с ИМ в сочетании с СД 2.

Заключение

Полученные в работе данные подтверждают потенциальное значение клеточных индексов воспаления для оценки прогноза госпитальной летальности у пациентов с ИМ в сочетании СД 2.

Создана математическая модель прогноза и установлена совокупность независимых предикторов госпитальной летальности больных ИМпST и СД 2, включающая НЛО, SII, SIRI, степень изменения вчСРБ в первые 2 суток, количество имплантированных стентов коронарных артерий и ИМТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Qian B, Zheng Y, Jia H, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as a predictive marker for postoperative infectious complications: A systematic review and meta-analysis. Heliyon. 2023;9(5):e15586. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15586.

2. Tang H, Lu W, Li B, et al. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in biliary tract cancers: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(22):36857-36868. doi: 10.18632/oncotarget.16143.

3. Kara SP, Altunan B, Unal A. Investigation of the peripheral inflammation (neutrophil-lymphocyte ratio) in two neurodegenerative diseases of the central nervous system. Neurol Sci. 2022 43(3):1799-1807. doi: 10.1007/s10072-021-05507-5. Epub 2021 Jul 31.

4. Varman A, Alkan S. Evaluation of neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio, mean platelet volume, and neutrophil/monocyte ratio in patients with benign breast lesions. Bratislavske Lekarske Listy. 2021;122. (7):489-492. doi: 10.4149/bll_2021_079.

5. Xu X, Cai L, Chen T, et al. Predictive value of inflammation-based Glasgow prognostic score, platelet-lymphocyte ratio, and global registry of acute coronary events score for major cardiovascular and cerebrovascular events during hospitalization in patients with acute myocardial infarction. Aging (Albany NY).2021;13(14):18274. doi: 10.18632/aging.203273.

6. Wang J, Zhu QW, Cheng XY, et al. Clinical significance of neutrophil–lymphocyte ratio and monocyte–lymphocyte ratio in women with hyperglycemia. Postgraduate medicine.2020;132(8):702-708. doi: 10.1080/00325481.2020.1764235.

7. Han K, Shi D, Yang L, et al. Prognostic value of systemic inflammatory response index in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. Annals of medicine.2022;54(1):1667-1677. doi: 10.1080/07853890.2022.2083671.

8. Dziedzic EA, Gąsior JS, Tuzimek A, et al. Investigation of the associations of novel inflammatory biomarkers—Systemic Inflammatory Index (SII) and Systemic Inflammatory Response Index (SIRI)—With the severity of coronary artery disease and acute coronary syndrome occurrence. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(17):9553. doi: 10.3390/ijms23179553.

9. Barbu E, Popescu MR, Popescu AC, et al. Inflammation as a precursor of atherothrombosis, diabetes and early vascular aging. International Journal of Molecular Sciences.2022;23(2):963. doi: 10.3390/ijms23020963.

10. Jack C-R Tsai, Sheng-Hsiung Sheu, Herng-Chia Chiu, et al. Association of peripheral total and differential leukocyte counts with metabolic syndrome and risk of ischemic cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes /metabolism research and reviews.2007;23(2):111-118. doi: 10.1002/dmrr.647.

11. Чаулин А.М., Григорьева Ю.В., Павлова Т.В., Дупляков Д.В. Диагностическая ценность клинического анализа крови при сердечно-сосудистых заболеваниях. Российский кардиологический журнал. 2020;25(12):3923. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3923.

12. Ong SB, Hernández-Reséndiz S, Crespo-Avilan GE, et al. Inflammation following acute myocardial infarction: Multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities. Pharmacol Ther. 2018;186:73-87. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.01.001.

13. Chao Qu, Xiang Li, Hai Gao. The Impact of Systemic Inflammation Response Index on the Prognosis of Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. Rev. Cardiovasc. Med. 2023;24(5):153. doi: 10.31083/j.rcm2405153.

14. Ji Z, Liu G, Guo, J, et al. The neutrophil-to-lymphocyte ratio is an important indicator predicting in-hospital death in AMI patients. Frontiers in Cardiovascular Medicine. 2021;8:706852. doi: 10.3389/fcvm.2021.706852.

15. Vatan MB, Çakmak AC, Ağaç S, et al. The systemic immune-inflammation index predicts impaired myocardial perfusion and short-term mortality in ST-segment elevation myocardial infarction patients. Angiology. 2023;74(4):365-373. doi: 10.1177/00033197221106886.

16. Zhang X, Wang S, Fang S, et al. Prognostic role of high sensitivity C-reactive protein in patients with acute myocardial infarction. Frontiers in cardiovascular medicine. 2021;8:659446. doi: 10.3389/fcvm.2021.659446.

17. Пат. 2790520, Российская Федерация, МПК G01N 33/68,G01N 33/49, G01N 33/53;Бардымова Т.П., Шестакова М.В., Цыреторова С.С., Донирова О.С., Михалевич И.М./ Способ оценки риска неблагоприятного исхода острого инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа. Заявление. 30.11.2021; опубликовано. 22.02.2023; Бюл. № 6.

СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ «УМНЫЙ ЛАЗЕР» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

З.А. Геворкян, стажер-исследователь отдела урологии и андрологии МНОЦ МГУ

Введение. Мочекаменная болезнь - распространенное заболевание, которым в мире страдают 12% населения. Одним из наиболее эффективных методов лечения мочекаменной болезни является лазерная литотрипсия. При лазерном дроблении возможна миграция камня, из-за чего возникает вероятность повреждения слизистой оболочки. Точность проведения хирургического вмешательства и целостность мягких тканей в процессе литотрипсии камня зависит исключительно от оценки наблюдаемой картины и скорости реакции хирурга. Таким образом метод интраоперационного распознавания «твердых» и «мягких» тканей во время выполнения лазерной литотрипсии должен снизить количество интра-, послеоперационных осложнений.

Цель. Повышение эффективности и безопасности лазерной литотрипсии

Материалы и методы. Было проведено 25 операций с применением системы «Умный Лазер» у пациентов в разных отделах мочевыделительной системы. Отраженное от тканей излучение, передаваемое через волоконный инструмент, находящийся в рабочем канале эндоскопа, подсоединенный к лазерному аппарату, поступало в блок обратных связей, предназначенный для измерения отраженного сигнала в режиме реального времени. Статистический анализ проводился с помощью языка программирования Python и ряда научных библиотек (numpy, scipy, skleam).

Результаты. На основе отраженных сигналов был разработан алгоритм, позволяющий в режиме реального времени различить мягкую ткань и конкременты перед волокном. Точность определения мягкой ткани составила 95 %, точность определения конкрементов - 90 %. Площадь под ROC-кривой составила 0,97 ± 0,04. Данный алгоритм был также интегрирован в лазер для обеспечения обратной связи, и установка была успешно испытана во время лазерной литотрипсии. Проведенная клиническая валидация показала, что во время выполнения лазерной литотрипсии ни у одного пациента при контакте лазерного волокна со слизистой последнее не было повреждено, тем самым, обеспечивая безопасность проведения лазерной литотрипсии.

Заключение. Разработанная система позволяет предотвратить термические травмы слизистой мочевыводящей системы при попадании лазерного волокна на ткань, обеспечивая безопасность проведения лазерной литотрипсии с сохранением высокой эффективности. Отдельно хотелось бы отметить, что с помощью данной системы будет проще проводиться процесс обучения начинающих урологов при использовании лазерной энергии.

ИНГИБИТОРЫ КОРРОЗИИ НА ОСНОВЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ МАГНИЕВЫХ СПЛАВОВ

А.С. Гнеденков, А.Д. Номеровский, С.Л. Синебрюхов, С.В. Гнеденков

Институт химии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

Магний и его сплавы являются перспективными материалами для использования в науке и технике поскольку обладают низкой плотностью [1], высокой удельной прочностью [2] и отличной технологичностью в обработке. Более того, магний является биогенным элементом, что позволяет его использовать для медицинских целей, например, в качестве основы для биодеградируемых имплататов [3–7]. Однако при всех достоинствах магния у него есть главный недостаток, ограничивающий его применение – низкая коррозионная стойкость [8]. Быстрое разрушение такого биорезорбируемого имплантата, обусловленное высокой электрохимической активности магния, может привести к серьезным проблемам, так как высок риск, что процесс регенерации костной ткани не успеет завершиться до момента нарушения механической целостности материала.

Основные способы, которые позволяют снизить интенсивность процесса коррозии металлов и сплавов, включают формирование защитных покрытий [9–12] и обработку поверхности с помощью ингибиторов коррозии [13–17]. Для защиты вентильных металлов, к которым относится магний, может быть использован метод плазменного электролитического оксидирования (ПЭО). В составе получаемого керамикоподобного слоя могут быть сформированы различные фазы за счет плазмохимического синтеза при взаимодействии компонентов электролита и обрабатываемой подложки материала [18]. Однако данные покрытия обладают высокой пористостью, что способствует более быстрому проникновению агрессивной среды к металлической поверхности с последующим образованием питтинга. По этой причине пористую часть защитного слоя необходимо функционализировать с целью улучшения антикоррозионных характеристик и снижения скорости деградации материала.

Эффективным способ модификации ПЭО-покрытий является использование ингибиторов коррозии [16,19] в качестве одного из компонентов защитного слоя. Следует отметить, что важным моментом выбора эффективного ингибитора коррозии является совместимость данного вещества с матрицей сформированного покрытия.

В данной работе была проведена оценка способности натриевых солей карбоновых кислот: фумаровой (FumNa), гликолевой (GliNa) и глюконовой кислот (GluNa) (являющихся нетоксичными для организма человека веществами [14,20]) к ингибированию процесса коррозии магниевого сплава МА8. Была проведена оценка скорости коррозии материала в присутствии

ингибитора методом волюмометрии, а также установлена совместимость данных ингибиторов с матрицей ПЭО-покрытия. Для этих целей образцы магниевых сплавов МА8 (без покрытия и с защитным ПЭО-слоем) были выдержаны в 0,9 масс. % растворе NaCl без ингибиторов, а также с добавлением ингибиторов коррозии.

На рисунке 1 отражен график зависимости изменения удельного объема, выделившегося в процессе коррозии сплава магния водорода от времени выдержки в хлоридсодержащей среде (7 сут). Графики изменения объема H_2 отражают интенсивность протекания процесса коррозионной деградации. Для образцов в 0,9 % растворе NaCl наблюдается равномерное выделение водорода в течение всего времени эксперимента, что указывает на отсутствие факторов, замедляющих процесс коррозии. Для образцов, выдержанных в 0,9 % растворе NaCl с добавкой глюконата натрия в концентрациях 0,05 М и 0,1 М, в основном выделение водорода происходит в течение 1 суток. Далее наблюдается незначительный прирост по объему H_2, связанный с формированием слоя продуктов коррозии. Анализ графика, представленного на рисунке 1, для образца, находящегося в 0,9 % растворе NaCl с фумаратом натрия, указывает на то, что незначительное выделение водорода наблюдается в течение первых трех суток выдержки, далее процесс замедляется. Для данного ингибитора можно отметить самое эффективное действие, направленное на снижение скорости коррозии, по сравнению с остальными используемыми ингибиторами. Увеличение концентрации фумарата натрия в растворе способствует снижению процесса коррозионной деградации материала. Основной процесс коррозии сплава магния в 0,9 % NaCl с добавлением гликолята натрия в концентрациях 0,05 М и 0,1 М также наблюдается в первые сутки выдержки. В последующем при выдержке материала интенсивность процесса коррозии увеличивается на четвертые/пятые сутки.

Методом СЭМ-ЭДС анализа в работе был установлен и изучен процесс формирования оксидных пленок на поверхности магниевого сплава МА8 в 0,9 % растворе NaCl с добавлением ингибиторов коррозии. Показано, что ингибиторы влияют на плотность и структуру образующегося оксидного слоя. Использование фумарата и гликолята натрия способствует формированию более коррозионностойкой оксидной пленки. В присутствии глюконата натрия в хлоридсодержащем растворе на сплаве магния формируется более толстая и дефектная оксидная пленка, обладающая невысокой адгезией к подложке материала, что вызывает ее деградацию.

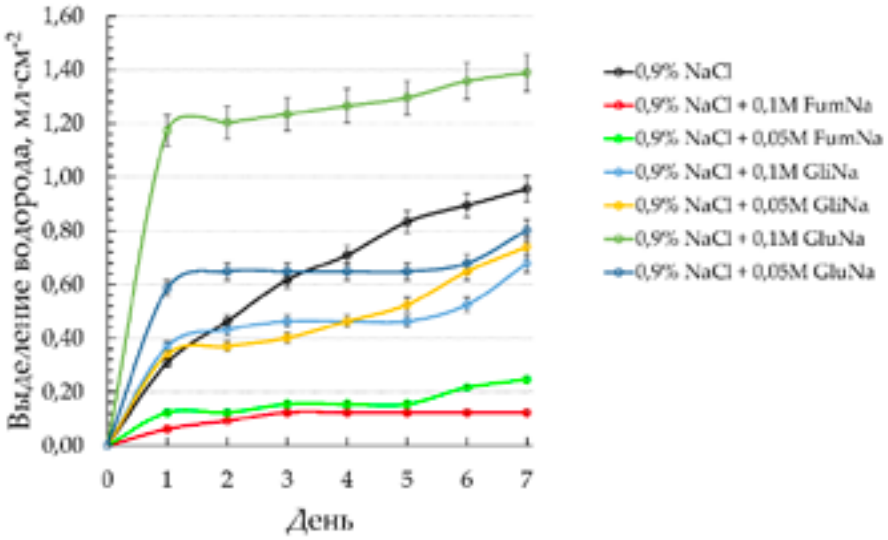


Рисунок 1. Изменение удельного объема выделившегося водорода в процессе 7 сут выдержки сплава магния в 0,9 % растворе NaCl с добавлением различных ингибиторов (фумарата натрия, гликолята натрия и глюконата натрия) в концентрациях 0,05 М и 0,1 М

На рисунке 2 приведены результаты оценки эффективности ингибиторов (фумарата натрия, гликолята натрия и глюконата натрия) для снижения скорости коррозии образцов магниевого сплава с кальций-фосфатным ПЭО-покрытием (в состав защитного слоя входит гидроксиапатит [21]) в 0,9 % растворе NaCl. В присутствии фумарата натрия в коррозионной среде образцы сплава с кальций-фосфатным покрытием обеспечивают самую низкую скорость коррозии среди всех исследуемых систем (0,08 мм·год$^{-1}$). Коррозионное поведение образцов с ПЭО-покрытием в среде, содержащей гликолят натрия, в первые 3 сут выдержки характеризуется меньшей скоростью выделения водорода, чем в растворе без добавления ингибитора коррозии. Однако в дальнейшем скорость коррозионной деградации образцов оказывается сопоставимой, что, вероятно, связано с возникновением большого числа дефектов в матрице кальций-фосфатного покрытия при его взаимодействии с гликолятом натрия, приводящих к появлению корродирующих участков, с пассивацией которых данный ингибитор не справляется (для образца в присутствии гликолята натрия скорость коррозии составила 0,45 мм·год$^{-1}$). В присутствии глюконата натрия образцы показывают меньшую скорость коррозии (0,30 мм·год$^{-1}$) относительно сплава магния с покрытием в среде, не содержащей ингибитор (0,45 мм·год$^{-1}$). Полученные результаты указывают на избирательную совместимость ингибиторов с матрицей защитного ПЭО-покрытия.

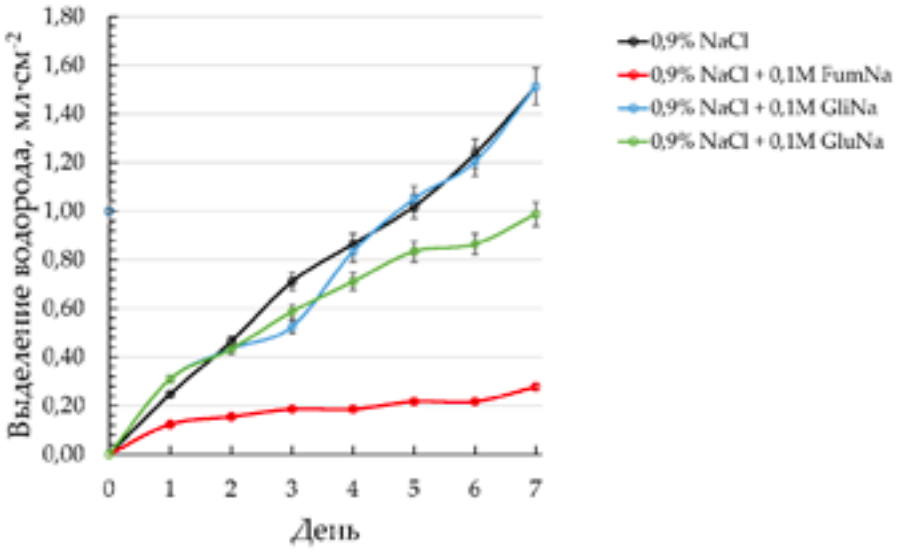


Рисунок 2. Изменение удельного объема выделившегося водорода в процессе 7 сут выдержки образцов сплава магния МА8 с ПЭО-покрытием в 0,9 % растворе NaCl с добавлением фумарата натрия, гликолята натрия и глюконата натрия в концентрации 0,1 М и без добавления ингибитора

Таким образом была определена высокая совместимость матрицы кальций-фосфатного ПЭО-покрытия с исследуемыми ингибиторами коррозии. Наибольшее повышение защитных свойств поверхностного слоя было зафиксирована для образца в фумаратсодержащем растворе. В присутствии фумарата натрия в коррозионной среде образцы сплава с покрытием обеспечивают самую низкую скорость коррозии среди всех исследуемых систем защитный слой/ингибитор (0,08 мм·год$^{-1}$). Полученные результаты указывают на возможность формирования эффективных защитных покрытий на поверхности биодеградируемого магниевого имплантата с использованием метода плазменного электролитического оксидирования и ингибиторов коррозии на основе карбоновых кислот (фумаровой, гликолевой и глюконовой).

СЭМ-ЭДС анализ и установление скорости коррозии сплава магния методом волюмометрии выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 20-13-00130. Формирование защитных кальций-фосфатных слоев и оценка совместимости ингибиторов коррозии с матрицей ПЭО-покрытий выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 21-73-10148.

ЛИТЕРАТУРА

1. Babu P., Solomon D.G. Mechanical and tribological properties of magnesium composites– A review // Mater. Today Proc. 2023.
2. Ravindran S. et al. Strength of magnesium at high pressures and strain rates // Extrem. Mech. Lett. 2020. Vol. 41. P. 101044.

3. Yang X. et al. Rare earth conversion coating on Mg–8.5Li alloys // J. Alloys Compd. Elsevier, 2009. Vol. 487, № 1–2. P. 64–68.

4. Rider P. et al. Biodegradable magnesium barrier membrane used for guided bone regeneration in dental surgery // Bioact. Mater. 2022. Vol. 14. P. 152–168.

5. Gazit T. et al. Foot Surgery Using Resorbable Magnesium Screws // J. Foot Ankle Surg. 2023.

6. Tang C.-F. et al. Possibility of magnesium supplementation for supportive treatment in patients with COVID-19 // Eur. J. Pharmacol. 2020. Vol. 886. P. 173546.

7. Niranjan C.A. et al. Magnesium alloys as extremely promising alternatives for temporary orthopedic implants – A review // J. Magnes. Alloy. 2023. Vol. 11, № 8. P. 2688–2718.

8. Gnedenkov A.S. et al. The detailed corrosion performance of bioresorbable Mg-0.8Ca alloy in physiological solutions // J. Magnes. Alloy. 2022. Vol. 10, № 5. P. 1326–1350.

9. Mashtalyar D. V. et al. Antibacterial Ca/P-coatings formed on Mg alloy using plasma electrolytic oxidation and antibiotic impregnation // Mater. Lett. North-Holland, 2022. Vol. 317. P. 132099.

10. Гнеденков С.В. et al. Свойства покрытий, сформированных на магниевом сплаве МА8 методом плазменного электролитического оксидирования // Вестник ДВО РАН. 2010. № 5. P. 35–46.

11. Gnedenkov A.S. et al. Smart composite antibacterial coatings with active corrosion protection of magnesium alloys // J. Magnes. Alloy. Elsevier, 2022. Vol. 10, № 12. P. 3589–3611.

12. Shang W. et al. Corrosion Resistance of Micro-Arc Oxidation/Graphene Oxide Composite Coatings on Magnesium Alloys // ACS Omega. American Chemical Society, 2020. Vol. 5, № 13. P. 7262–7270.

13. Xu W. et al. A high-specific-strength and corrosion-resistant magnesium alloy // Nat. Mater. 2015 1412. Nature Publishing Group, 2015. Vol. 14, № 12. P. 1229–1235.

14. Yang J. et al. Experimental and quantum chemical studies of carboxylates as corrosion inhibitors for AM50 alloy in pH neutral NaCl solution // J. Magnes. Alloy. 2022. Vol. 10, № 2. P. 555–568.

15. Feng J. et al. A Lactoglobulin-Composite Self-Healing Coating for Mg Alloys // ACS Appl. Bio Mater. American Chemical Society, 2021.

16. Gnedenkov A.S. et al. Smart composite antibacterial coatings with active corrosion protection of magnesium alloys // J. Magnes. Alloy. 2022. Vol. 10, № 12. P. 3589–3611.

17. Sun M. et al. Self-healing plasma electrolytic oxidation coatings doped with benzotriazole loaded halloysite nanotubes on AM50 magnesium alloy // Corros. Sci. 2016. Vol. 111. P. 753–769.

18. Gnedenkov A.S. et al. Hydroxyapatite-containing PEO-coating design for biodegradable Mg-0.8Ca alloy: Formation and corrosion behaviour // J. Magnes. Alloy. Elsevier, 2022.

19. Gnedenkov A.S. et al. Design of self-healing PEO-based protective layers containing in-situ grown LDH loaded with inhibitor on the MA8 magnesium alloy // J. Magnes. Alloy. 2023.

20. Lamaka S.V. et al. Comprehensive screening of Mg corrosion inhibitors // Corros. Sci. 2017. Vol. 128. P. 224–240.

21. Gnedenkov A.S. et al. A Superior Corrosion Protection of Mg Alloy via Smart Nontoxic Hybrid Inhibitor-Containing Coatings // Molecules. 2023. Vol. 28, № 6. P. 2538.

ИНГИБИТОРСОДЕРЖАЩИЕ SMART-ПОКРЫТИЯ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО ПРОЦЕССА ДЕГРАДАЦИИ МАГНИЕВЫХ ИМПЛАНТАТОВ

А.С. Гнеденков, В.С. Марченко, С.Л. Синебрюхов, С.В. Гнеденков

Институт химии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

Известно, что тенденция магниевых сплавов к быстрой и гетерогенной коррозионной деградации существенно ограничивает область применения данных материалов. Формирование на поверхности вентильных металлов, в частности магния и его сплавов, защитных биоактивных и биорезорбируемых покрытий методом плазменного электролитического оксидирования (ПЭО) является одним из наиболее доступных и технологичных способов контроля процесса биодеградации материала [1–5]. Этот метод имеет большой потенциал для разработки новых и усовершенствования существующих изделий из магния с целью улучшения их биомедицинских свойств и уменьшения негативного воздействия на организм пациента. Возможности метода плазменного электролитического оксидирования позволяют «управлять» составом и свойствами формируемых поверхностных слоёв путём варьирования состава электролита и режима обработки. В частности, методом ПЭО можно формировать на поверхности магния гидроксиапатитсодержащие гетерогенные слои с развитой поверхностной морфологией и высокой адгезией к материалу подложки. В процессе резорбции сплава с ПЭО-покрытием происходит высвобождение ионов биологически значимых элементов, например: магния, кальция, фосфат-ионов, что позволяет существенно снизить интенсивность деминерализации костной ткани в постимплантационный период выздоровления пациента [6–12]. Пористая структура гетерооксидного покрытия является подходящей основой для дальнейшей модификации различными защитными агентами с целью повышения длительности и уровня антикоррозионной защиты, а также для контроля скорости деградации изделий из магния и его сплавов. В частности, одним из популярных направлений современной науки о материалах является формирование самозалечивающихся smart-покрытий с применением безвредных для человека ингибиторов коррозии [13–18]. Представленное исследование, посвящено формированию биосовместимых покрытий с функцией активной антикоррозионной защиты, полученных на базе биорезорбируемого ПЭО-покрытия, содержащего гидроксиапатит. Для обеспечения контролируемой скорости резорбции, модифицированный ингибитором коррозии (стеариновой кислотой и нитратом церия) ПЭО-слой, был дополнительно обработан биорезорбируемым полимерным материалом – поликапролактоном (ПКЛ).

В качестве образцов для проведения исследований использовались прямоугольные пластины магниевого сплава МА8 (система Mg-Mn-Ce) с размерами 15×20×1,5 мм.

Для проведения исследований были подготовлены образцы с базовым ПЭО-покрытием, с композиционным покрытием (содержащим либо ингибитор коррозии, либо полимер) и с гибридным покрытием (содержащим ингибитор коррозии и полимерный материал).

Оценка уровня коррозионной стойкости образцов с различными типами защитных покрытий осуществлялась при использовании методов потенциодинамической поляризации (PDP) и электрохимической импедансной (EIS) спектроскопии. Образцы были выдержаны в 0,9 масс. % растворе хлорида натрия (аналог физиологического раствора). На основании анализа полученных импедансных спектров и поляризационных кривых было выявлено, что среди церийсодержащих поверхностных слоёв, наилучшей устойчивостью к протеканию коррозионных процессов характеризуются образцы с гибридным покрытием. Методами EIS и PDP было установлено, что образцы с данным покрытием характеризуется наименьшим значением плотности тока коррозии, I_c, (после 1 ч выдержки в 0,9 % растворе NaCl $I_c = 4{,}1 \cdot 10^{-7}$ А/см^2, после 24 ч выдержки $I_c = 1{,}7 \cdot 10^{-7}$ А/см^2) и наибольшим значением поляризационного сопротивления, R_p, (после 1 ч выдержки $R_p = 6{,}8 \cdot 10^4$ Ом·см^2, после 24 ч выдержки $R_p = 2{,}3 \cdot 10^5$ Ом·см^2), а также наибольшим значением модуля импеданса, записанного на низкой частоте, $|Z|_{f=0{,}1\ Гц}$, (после 1 ч выдержки $|Z|_{f=0{,}1\ Гц} = 33898$ Ом·см^2, после 24 ч выдержки $|Z|_{f=0{,}1\ Гц} = 23228$ Ом·см^2).

Образцы с гибридным защитным слоем, содержащим стеариновую кислоту и поликапролактон, также обладают высокими антикоррозионными свойствами. Установлено, что данный тип покрытий характеризуется наименьшим значением плотности тока коррозии (после 1 ч выдержки в 0,9 % растворе NaCl $I_c = 1{,}70 \cdot 10^{-8}$ А/см^2, после 24 ч выдержки $I_c = 1{,}25 \cdot 10^{-7}$ А/см^2) и наибольшим значением поляризационного сопротивления (после 1 ч выдержки $R_p = 2{,}60 \cdot 10^6$ Ом·см^2, после 24 ч выдержки $R_p = 1{,}59 \cdot 10^5$ Ом·см^2), а также наибольшим значением модуля импеданса (после 1 ч выдержки $|Z|_{f=0{,}1\ Гц} = 104620$ Ом·см^2, после 24 ч выдержки $|Z|_{f=0{,}1\ Гц} = 23860$ Ом·см^2).

Было показано, что уровень защитных свойств образцов с гибридными покрытиями незначительно изменился в результате длительного пребывания в агрессивной хлоридсодержащей среде. В то время как для образцов с базовым и композиционным покрытиями наблюдалось существенное снижение коррозионной стойкости материала.

Коррозионное поведение образцов на микроуровне было установлено с использованием локальных сканирующих электрохимических методов: Scanning Vibrating Electrode Technique (SVET) и Scanning Ion-Selective Electrode Technique (SIET). В результате анализа зависимостей изменения значений локальной плотности тока и pH от времени выдержки образцов, полученных с использованием методов SVET и SIET, для ингибиторсодержащих систем покрытий было установлено проявление свойств самозалечивания. Для образцов, содержащих в составе

покрытия нитрат церия и стеариновую кислоту, показано формирование поверхностной пленки в области дефекта за счет реализации функции активной защиты от коррозии материала. Установлено, что в процессе выдержки образцов с гибридными покрытиями были зафиксированы наименьшие значения локальной плотности тока. Локальное значение водородного показателя для данных систем было близко к pH=7. Полученные результаты указывают на наиболее эффективное подавление процесса коррозии материала с гибридными покрытиями среди всех исследуемых образцов.

Таким образом, по результатам проведения исследования установлена перспективность применения гибридных покрытий, содержащих биорезорбируемый полимерный материал и биосовместимые ингибиторы коррозии (нитрат церия и стеариновую кислоту), для обеспечения контролируемой резорбции и повышения биоактивности имплантационных материалов на основе магния с целью их последующего применения в медицинской практике.

Формирование защитных слоев и оценка коррозионной стойкости материала с покрытием методами EIS и PDP выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 20-13-00130. Анализ коррозионного поведения образцов на микроуровне (методами SVET и SIET) проведен при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 21-73-10148.

ЛИТЕРАТУРА

[1] A.S. Gnedenkov, S.L. Sinebryukhov, D. V. Mashtalyar, S. V. Gnedenkov, Microscale morphology and properties of the PEO-coating surface, in: Phys. Procedia, 2012. https://doi.org/10.1016/j.phpro.2012.01.025.

[2] D. V. Mashtalyar, S. V. Gnedenkov, S.L. Sinebryukhov, I.M. Imshinetskiy, A.S. Gnedenkov, V.M. Bouznik, Composite coatings formed using plasma electrolytic oxidation and fluoroparaffin materials, J. Alloys Compd. 767 (2018). https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.07.085.

[3] A.S. Gnedenkov, S.L. Sinebryukhov, D. V. Mashtalyar, S. V. Gnedenkov, Inhibitor-Containing Composite Coatings on Mg Alloys: Corrosion Mechanism and Self-Healing Protection, Solid State Phenom. 245 (2015) 89–96. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.245.89.

[4] A.S. Gnedenkov, S.L. Sinebryukhov, D. V. Mashtalyar, S. V. Gnedenkov, Localized corrosion of the Mg alloys with inhibitor-containing coatings: SVET and SIET studies, Corros. Sci. (2016). https://doi.org/10.1016/j.corsci.2015.10.015.

[5] A.S. Gnedenkov, S.L. Sinebryukhov, D. V. Mashtalyar, S. V. Gnedenkov, Self-healing effect of the protective inhibitor-containing coatings on Mg alloys, in: AIP Conf. Proc., 2017. https://doi.org/10.1063/1.4998041.

[6] M. Molaei, A. Fattah-alhosseini, M. Nouri, A. Nourian, Systematic optimization of corrosion, bioactivity, and biocompatibility behaviors of calcium-phosphate plasma electrolytic oxidation (PEO) coatings on titanium substrates, Ceram. Int. 48 (2022) 6322–6337. https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2021.11.175.

[7] L. Kostelac, L. Pezzato, A.G. Settimi, M. Franceschi, C. Gennari, K. Brunelli, C. Rampazzo, M. Dabalà, Investigation of hydroxyapatite (HAP) containing coating on grade 2 titanium alloy prepared by plasma electrolytic oxidation (PEO) at low voltage, Surfaces and Interfaces 30 (2022) 101888. https://doi.org/10.1016/J.SURFIN.2022.101888.

[8] L. Moreno, M. Mohedano, R. Arrabal, E. Matykina, Development and screening of (Ca-P-Si-F)-PEO coatings for biodegradability control of Mg-Zn-Ca alloys, J. Magnes. Alloy. (2022). https://doi.org/10.1016/j.jma.2021.12.011.

[9] V. Grebņevs, K. Leśniak-Ziółkowska, M. Wala, M. Dulski, Ş. Altundal, A. Dutovs, L. Avotiņa, D. Erts, R. Viter, A. Vīksna, W. Simka, Modification of physicochemical properties and bioactivity of oxide coatings formed on Ti substrates via plasma electrolytic oxidation in crystalline and amorphous calcium phosphate particle suspensions, Appl. Surf. Sci. 598 (2022) 153793. https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2022.153793.

[10] A.S. Gnedenkov, S. V. Lamaka, S.L. Sinebryukhov, D. V. Mashtalyar, V.S. Egorkin, I.M. Imshinetskiy, M.L. Zheludkevich, S. V. Gnedenkov, Control of the Mg alloy biodegradation via PEO and polymer-containing coatings, Corros. Sci. (2021). https://doi.org/10.1016/j.corsci.2021.109254.

[11] R. Chaharmahali, A. Fattah-alhosseini, K. Babaei, Surface characterization and corrosion behavior of calcium phosphate (Ca-P) base composite layer on Mg and its alloys using plasma electrolytic oxidation (PEO): A review, J. Magnes. Alloy. 9 (2021). https://doi.org/10.1016/j.jma.2020.07.004.

[12] A. Santos-Coquillat, M. Esteban-Lucia, E. Martinez-Campos, M. Mohedano, R. Arrabal, C. Blawert, M.L. Zheludkevich, E. Matykina, PEO coatings design for Mg-Ca alloy for cardiovascular stent and bone regeneration applications, Mater. Sci. Eng. C 105 (2019). https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110026.

[13] P. Thiangpak, A. Rodchanarowan, The synthesis of polycaprolactone (PCL) microspheres containing cerium (III) nitrate (Ce(NO3)3) self-healing agent via double emulsion evaporation method, Mater. Today Commun. 25 (2020) 101668. https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2020.101668.

[14] J. Guo, X. Liu, K. Du, Q. Guo, Y. Wang, Y. Liu, L. Feng, An anti-stripping and self-healing micro-arc oxidation/acrylamide gel composite coating on magnesium alloy AZ31, Mater. Lett. 260 (2020). https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.126912.

[15] V. Zahedi Asl, J. Zhao, M.J. Anjum, S. Wei, W. Wang, Z. Zhao, The effect of cerium cation on the microstructure and anti-corrosion performance of LDH conversion coatings on AZ31 magnesium alloy, J. Alloys Compd. 821 (2020). https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.153248.

[16] X. Liu, T.C. Zhang, H. He, L. Ouyang, S. Yuan, A stearic Acid/CeO2 bilayer coating on AZ31B magnesium alloy with superhydrophobic and self-cleaning properties for corrosion inhibition, J. Alloys Compd. 834 (2020). https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.155210.

[17] S. Khalifeh, T.D. Burleigh, Super-hydrophobic stearic acid layer formed on anodized high purified magnesium for improving corrosion resistance of bioabsorbable implants, J. Magnes. Alloy. 6 (2018). https://doi.org/10.1016/j.jma.2018.08.003.

[18] L. Zhang, E.A.A. Mohammed, A. Adriaens, Synthesis and electrochemical behavior of a magnesium fluoride-polydopamine-stearic acid composite coating on AZ31 magnesium alloy, Surf. Coatings Technol. 307 (2016). https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.08.021.

ОЦЕНКА БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ НА ОСНОВЕ ХОНДРОЦИТАРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИПСК ПРИ ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ ИММУНОДЕФИЦИТНЫМ МЫШАМ

П.А. Голубинская, А.С. Пикина, Е.С. Ручко, А.В. Еремеев

P.A. Golubinskaya, A.S. Pikina, E.S. Ruchko, A.V. Eremeev

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

Лаборатория трансляционной биомедицины

Актуальность. В настоящее время клеточные технологии являются активно развивающейся областью медицинской науки, применение которых нацелено в том числе и на восстановление структуры хрящевой ткани. Известно, что культуры аутологичных хондроцитов успешно используются в лечении повреждений суставного хряща за рубежом, а в России подобные технологии проходят клинические исследования. Однако у данного терапевтического подхода существует ряд недостатков. К ним относится повреждение здоровой ткани пациента при проведении биопсии, ограниченный пролиферативный потенциал клеток пациентов, постепенная потеря фенотипа клетками при длительном культивировании *in vitro*, невозможность взятия биопсии в ряде клинических случаев. Для решения указанных проблем перспективно использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Благодаря их неограниченной способности к самообновлению, широкому потенциалу дифференцировки и минимальной инвазивности получения ИПСК могут стать подходящей заменой аутологичным хондроцитам. Проблема отторжения ИПСК в случае аллогенной трансплантации может быть снята путём получения гипоиммуногенных линий клеток. Работа в данном направлении ведется, и в нашей лаборатории ранее получена, охарактеризована линия ИПСК, нокаутная по гену *B2m*. Однако перед использованием дифференцированных производных ИПСК в регенеративной медицине необходимо оценить безопасность, а именно: биораспределение, потенциальную туморогенность и онкогенность, а также эффективность и стабильность интеграции в окружающие ткани. Развитие клеточных технологий также привело к применению хондроцитов в составе трехмерных конструкций, что имеет свои преимущества: в такой конфигурации клетки имеют больше межклеточных контактов, что имитирует формирование ткани при прехондрогенной конденсации в эмбриогенезе [1, 2].

Целью исследования являлась оценка биораспределения и онкогенности препарата тканевой инженерии (ПТИ) на основе хондроцитов различного генеза при трансплантации мышам линии Balb/c Nude через 3 месяца после подкожного введения.

Материалы и методы. Для проведения исследований была изготовлена отдельная партия хрящевого имплантата (Хондросферы) на основе хондроцитов человека из донорского материала и дифференцированных производных в хондрогеном направлении ИПСК. Культуры хондроцитов были оценены с помощью иммуноцитохимической окраски и ПЦР-РВ на наличие экспрессии аггрекана, коллагена I типа, коллагена II типа и SOX9. Полученная партия Хондросфер была проверена на соответствие критериям качества с помощью гистологической окраски, иммуноцитохимии и метода ПЦР-РВ. Хондросферы из хондроцитов человека (N=12) и ИПСК-производных (N=12) вводили подкожно мышам линии Balb/c Nude. Онкогенность ПТИ определялась в сравнении с группой введения мышам контрольных опухолевых линий MDA231 (N=4) и мезенхимальных стромальных клеток (МСК) из жировой ткани человека (N=4). В качестве плацебо-контроля использовались мыши, которым вводили физиологический раствор (N=12). В ходе наблюдения за животными проводились измерения массы тела и размеров образования в месте закола. Работы с животными проводили базе вивария ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Проведение исследования было одобрено Комиссией по биоэтике ННГУ (протокол №73 от 17.04.2023). Анализ биораспределения Хондросфер осуществляли в лаборатории ФНКЦ ФХМ с помощью ПЦР с детекцией в агарозном геле. Для этого применялись праймеры, специфичные к гену цитохром С оксидазы 1 (*COI*) для обнаружения ДНК человека и мышиного варианта гена белка бета-актина (*mActb*) для определения ДНК мыши в образцах тканей и органов животных, получивших препарат.

Результаты измерений обрабатывали с помощью пакетов программ Microsoft Excel и SPSS Statistics 17.0. Для проверки нормальности распределения применяли тест Шапиро-Уилка. В качестве метода сравнения использован U-тест Манна-Уитни. При множественных сравнениях применяли поправку Бонферрони. Различия между группами считали статистически достоверными при уровне значимости $p<0,05$. График строили с помощью языка программирования R с использованием пакетов ggplot2 и ggbreak [3]. Общая схема эксперимента представлена на рисунке 1.

Рисунок 1. Общая схема эксперимента

Результаты и обсуждение. Через 1 месяц из эксперимента были выведены мыши после закола МСК и опухолевых клеток, поскольку размеры новообразования в месте закола мешали нормальной жизнедеятельности животных (рисунок 2 Б, Д). Мыши после закола Хондросфер были выведены через 3 месяца. Внешний вид животных изображён на рисунке 2.

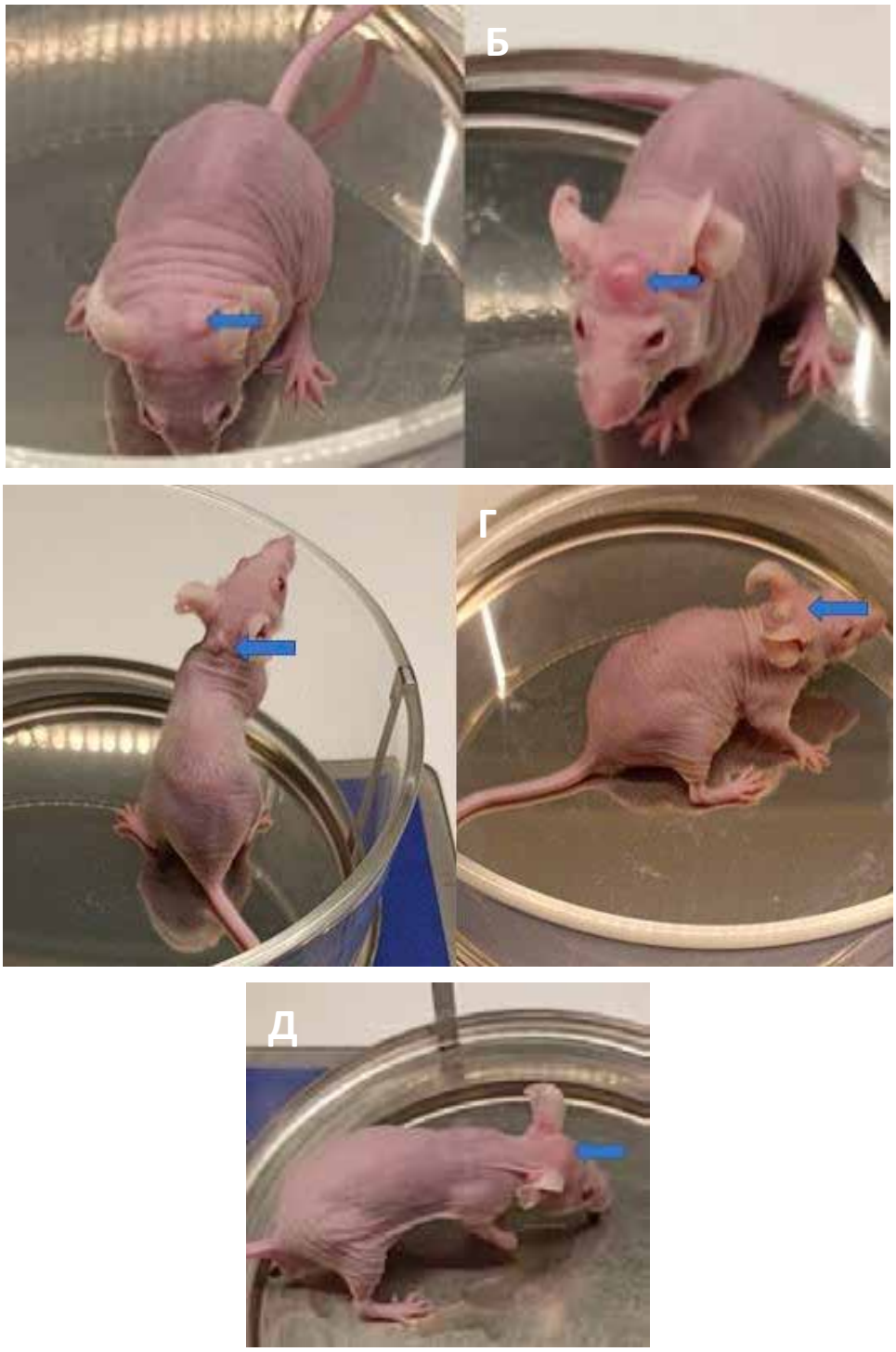


Рисунок 2. Внешний вид мышей через месяц после подкожной имплантации клеток. А – введение Хондросфер из хондроцитов человека; Б – введение MDA231; В – введение ИПСК, линия iPSRG4S; Г – введение ИПСК, линия iPSRG4S dB2m; Д – введение МСК.

По результатам измерений веса животных статистически значимых различий выявлено не было ($p<0,05$). При измерении объёма образования в месте закола клеток прослеживается тенденция к компактизации Хондросфер из ИПСК при сравнении с ПТИ из хондроцитов (рис. 3). Кроме того, выявлено усиленное разрастание образования в группе закола опухолевых клеток (рис. 3).

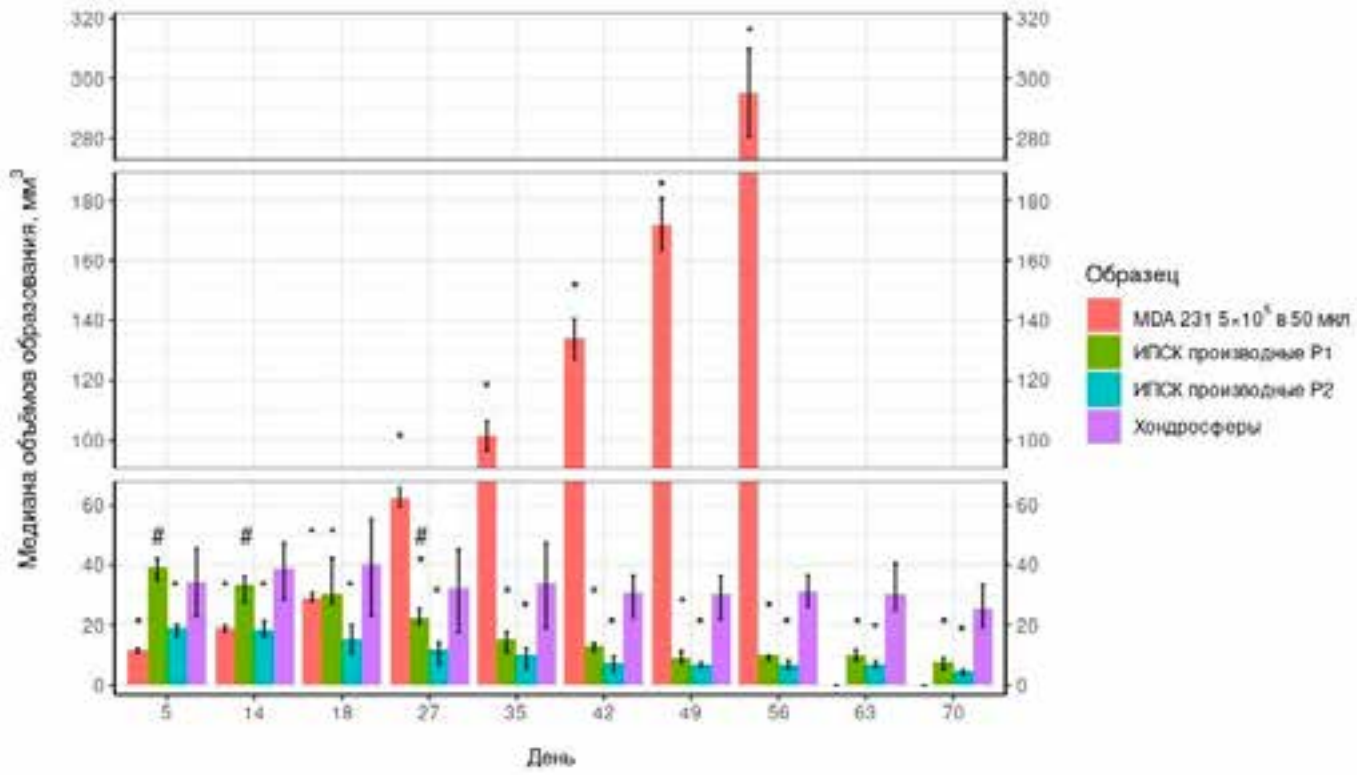


Рисунок 3. Динамика изменения объёмов образования после инокуляции хондросфер различного генеза или линии клеток MDA 231, мм^3. Хондросферы – сфероиды из человеческих хондроцитов, ИПСК производные P2 – сфероиды из ИПСК, дифференцированных в хондрогенном направлении по протоколу с использованием кондиционированной среды, ИПСК производные P1 – сфероиды из ИПСК, дифференцированных в хондрогенном направлении по комбинированному протоколу [4, 5]. # - статистически значимые различия при сравнении с группой закола ИПСК-производных P2; * - статистически значимые различия при сравнении с группой закола Хондросфер из ХЦ человека; ** - статистически значимые различия при сравнении с остальными группами; $p<0.05$.

Проведенная ПЦР показала, что человеческая ДНК обнаруживается у двух мышей в месте закола Хондросфер. У одного животного опытной группы ДНК человека была выявлена в образце тонкого кишечника, что может быть объяснено оральным путём попадания ПТИ в организм от другой мыши, содержащейся в той же клетке.

Оценка онкогенности, туморогенности и морфологии трансплантированных Хондросфер с помощью анализа гистологических препаратов из зон введения ПТИ выявила, что импланты

успешно приживались, формируя хондроцитарную ткань, близкую по структуре к нативной (рис. 4 А, Б). В группе закола контрольной линии опухолевых клеток MDA 231 наблюдалась картина, характерная для разрастания подобного типа клеток (рис. 4 В, Г).

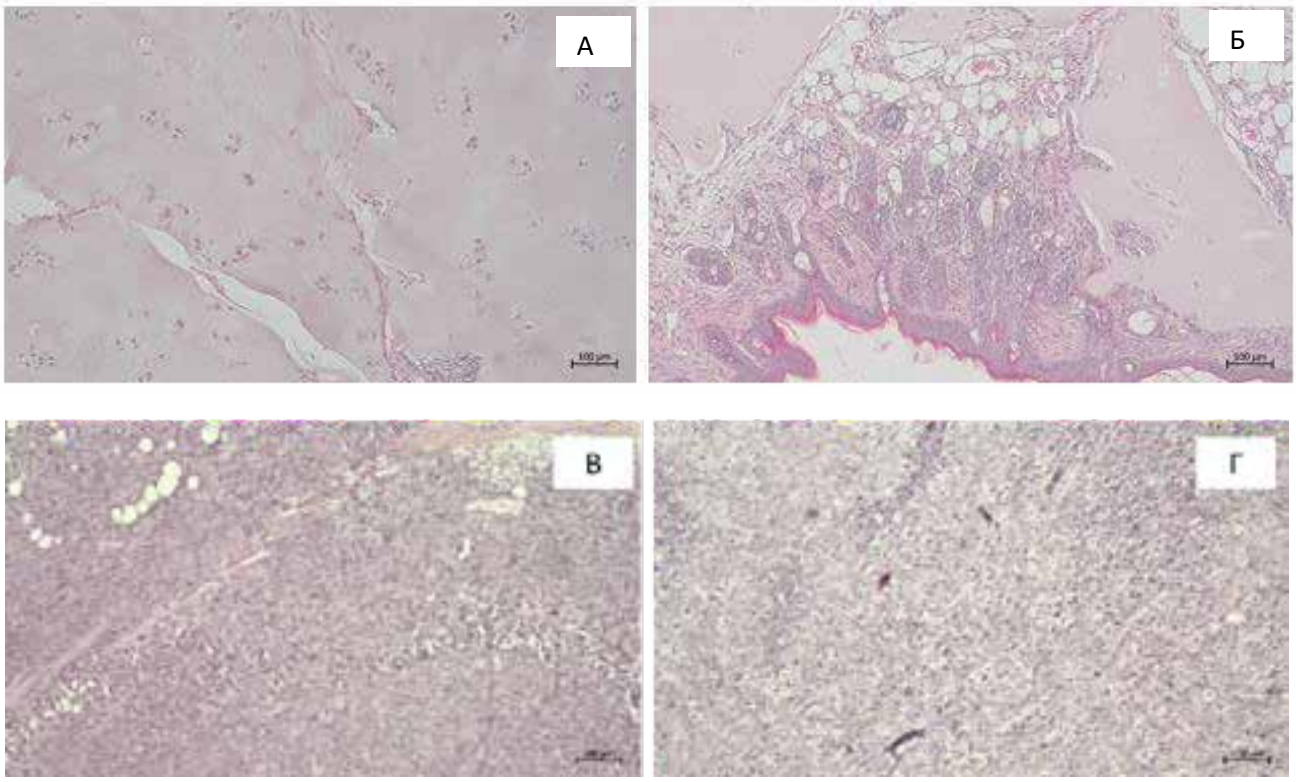


Рисунок 4. Хондросферы, окраска гематоксилин-эозином. Увеличение Х20. Масштабный отрезок 100 мкм. А – группа закола Хондросфер из клеток пациента, Б – группа Хондросфер из ИПСК, В, Г – образцы тканей из групп положительного контроля (закол MDA 231).

Для доказательства функциональной состоятельности имплантата была проведена окраска гистологических срезов альциановым синим и по Маллори на содержание внеклеточного матрикса (рис. 5).

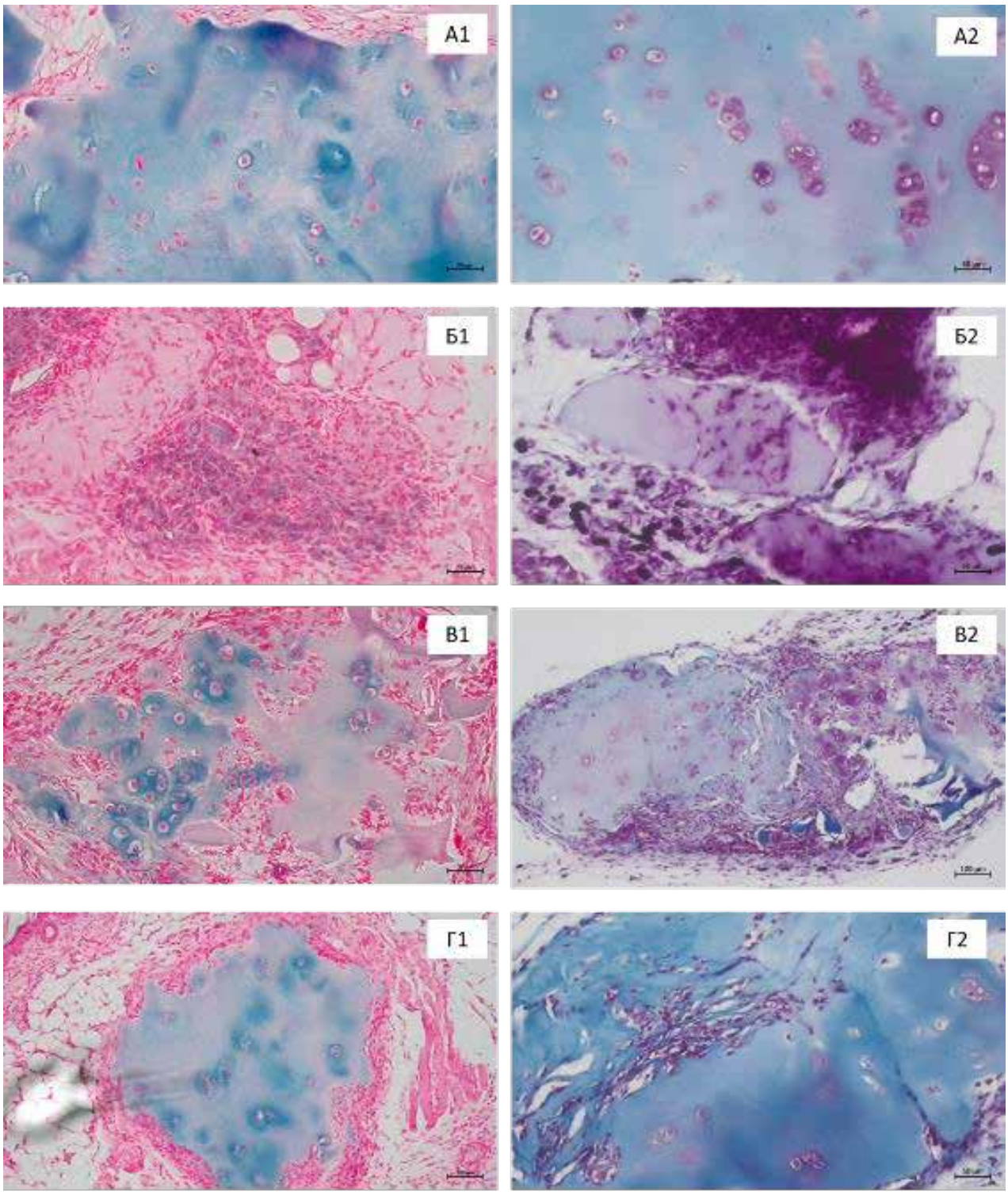


Рисунок 5. Оценка качественного состава имплантов. Масштабный отрезок 50 мкм. Окраска альциановым синим pH 2.5 (1) и трихромом по Маллори (2). Увеличение X20. А – группа ХС из клеток пациента, Б – эмбриональные тельца, В – ХС из ИПСК, Г – ХС из ИПСК с Bd2m (нокаут).

Заключение. На основании полученных данных можно сделать вывод об эффективности развития хрящевой ткани в опытных группах с введением Хондросфер на основе хондроцитов донорского материала и ИПСК дифференцированных производных, включая нокаутные по B2m. Однако, хрящевая ткань, полученная из ИПСК-производных менее зрелая и значительно теряет

в объеме через некоторое время после введения. При этом, все варианты Хондросфер не обладают онкогенностью и туморогенностью, не гипертрофируются in vivo. Все типы препарата (как на основе хондроцитов донорской ткани, так и из дифференцированных производных ИПСК) не обладают способностью миграции в отдаленные органы и ткани при проведении исследования через 3 месяца после введения. Все эти результаты свидетельствуют в пользу безопасности применения изучаемого продукта, в том числе, из ИПСК производных.

Финансирование. Работа поддержана грантом РНФ №22-15-00250.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fickert S, Gerwien P, Helmert B, Schattenberg T, Weckbach S, Kaszkin-Bettag M, Lehmann L. One-Year Clinical and Radiological Results of a Prospective, Investigator-Initiated Trial Examining a Novel, Purely Autologous 3-Dimensional Autologous Chondrocyte Transplantation Product in the Knee // Cartilage, 2012. - Vol. 3. - – №. 1. – P. 27-42.

2. Erben R.G., Silva-Lima B., Reischl I., Steinhoff G., Tiedemann G., Dalemans W., Vos A., Janssen R.T.A., Le Blanc K., van Osch G., Luyten F.P. White paper on how to go forward with cell-based advanced therapies in Europe // Tissue Eng Part A, 2014. – Vol. 20. – P. 2549–2554.

3. Xu S., Chen M., Feng T., Zhan L., Zhou L., Yu G. Use ggbreak to effectively utilize plotting space to deal with large datasets and outliers // Frontiers in Genetics. – 2021. – Vol. 12. – P. 2122.

4. Yamashita A., Morioka M., Yahara Y., Okada M., et al. Generation of scaffoldless hyaline cartilaginous tissue from human iPSCs //Stem cell reports. – 2015. – Т. 4. – №. 3. – P. 404-418.

5. Kawata M., Mori D., Kanke K., Hojo H., et al. Simple and robust differentiation of human pluripotent stem cells toward chondrocytes by two small-molecule compounds // Stem cell reports. – 2019. – Т. 13. – №. 3. – P. 530-544.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ УРОПАТОГЕНОВ В МОЧЕ МЕТОДОМ ПЦР ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

А.В. Громова, к.в.н., Т.С. Скачкова, Е.Н. Головешкина к.б.н.

ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

Введение

Среди заболеваний в амбулаторно-поликлинической и госпитальной практике инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одними из наиболее распространённых, уступая по превалентности инфекциям респираторного тракта, при этом в силу анатомических особенностей мочеполовой системы чаще развиваются у женщин [1, 2]. В регионах Российской Федерации распространенность ИМП колеблется в пределах 5,6-27,5% [3]. По данным Росстата «Сведения о числе зарегистрированных заболеваний инфекциями мочевыводящих путей, связанными с оказанием медицинской помощи в Российской Федерации в 2018-2022 гг.» более 60% из случаев ИМП регистрируют в хирургических отделениях ежегодно, более 1% – в акушерских и детских стационарах.

Этиологическими бактериальными агентами при ИМП у детей и взрослых являются грамотрицательные и грамположительные представители микробиоты: *Escherichia coli* (доминирующий уропатоген), *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus agalactiae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii* и другие реже идентифицируемые уропатогены [4-9]. Частота выявления того или иного микроорганизма, как причины инфекционного процесса, широко варьирует среди различных когорт пациентов, в зависимости от локализации уропатогена в мочевыводящих путях, возрастной категории, гендерной принадлежности, наличия беременности, наличия рецидива, хирургических вмешательств и сопутствующих патологий.

В соответствии с клиническими рекомендациями «Бактериологический анализ мочи» (2014 г.) основными показаниями для идентификации бактерий в моче являются: подозрение на пиелонефрит и инфекцию, связанную с медицинскими манипуляциями в мочевых путях, специфическая симптоматика при осложненных и неосложнённых ИМП у беременных и пожилых женщин, а также мужчин, случаи госпитальных ИМП, лихорадка у пациентов с катетеризацией и у детей в возрасте до 3 лет, рецидивы ИМП и неэффективность антибиотикотерапии.

Необходимость диагностики и лечения бессимптомной бактериурии (ББ) является предметом спора во врачебной практике и разного уровня рекомендаций и качества

доказательства. Однако на сегодняшний день к факторам риска осложнений при ББ относят беременность, рост количественного показателя в моче *Proteus mirabilis* в динамике, подозрение на простатит у мужчин, сахарный диабет с неконтролируемым уровнем гликемии, период подготовки пациента перед урологическим вмешательством с введением хирургических инструментов в мочевыводящие пути [10, 11, 12].

Для лабораторного анализа наличия бактерий в моче традиционной процедурой считается посев мочи на универсальные и селективные питательные среды на 18-48 часов инкубирования с дальнейшим определением титра и морфологии культур. Данные методики позволяют определять диагностически значимую бактериурию и идентифицировать микроорганизмы по фенотипическим признакам, при этом требует довольно много времени, трудозатрат и материально-техническое обеспечение лаборатории [14]. На корректность результатов бактериологического исследования урокультур оказывает влияние сроки транспортировки, условия хранения образцов и остаточная антимикробная активность [15-16].

Репрезентативные колонии при «классическом» выделении чистых культур из мочи идентифицируют до вида с помощью широко распространённых автоматизированных технологий, таких как использование биохимических карт с колориметрическим и флуориметрическим считыванием, матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии [17-22].

Внедрение молекулярно-биологических методов в лабораторную диагностику ИМП позволит решить многие проблемы своевременного качественного и количественного определения возбудителей инфекционных заболеваний. Для успешной реализации алгоритмов количественного лабораторного анализа инфекционных агентов с помощью ПЦР технологий необходимо проводить экспериментальную проверку достоверности результатов измерения, соблюдая принципы оценки аналитической надёжности.

Целью нашей работы являлось разработка эффективной количественной методики на основе мультиплексной ПЦР для идентификации уропатогенов.

Материалы и методы

В основе разработки методики ускоренной диагностики возбудителей ИМП лежит сбор биоматериала (средней порции мочи и мочи, полученной через катетер), предподготовка биоматериала, выделение ДНК из мочи с последующим проведением мультиплексной ПЦР в режиме реального времени, основанной на детекции специфических продуктов амплификации с помощью олигонуклеотидных флуоресцентно меченых гибридизационных зондов. В качестве ДНК-мишеней для выявления бактерий порядка *Enterobacterales*, *Proteus* spp., *Enterococcus spp., Staphylococcus spp., Streptococcus spp.,* а также общего содержания бактерий выбраны фрагменты

гена 16S рибосомальной РНК, для видовой дифференциации и выявления ДНК *E. coli* – ген *uidA*, ДНК *K. pneumoniae* – ген *rcsA*, ДНК *P. aeruginosa* – ген *oprL*, ДНК *S. agalactiae* – ген *sip*.

Для методики на основе мультиплексной ПЦР были разработаны три мультилокусные смеси с олигонуклеотидными праймерами и гибридизационными зондами мечеными флуорофорами (FAM, R6G, ROX и Cy5), комплементарными к исследуемым участкам ДНК: 1 смесь – бактерий порядка *Enterobacterales, E. coli*, общее содержание ДНК бактерий, 2 смесь – *Proteus spp.*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, 3 смесь – *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *S. agalactiae*. Данные «ПЦР-миксы» апробированы в двух формах – жидкой и лиофилизированной в индивидуальных пробирках.

При проведении мультиплексной ПЦР в режиме реального времени использовали приборы планшетного (CFX96 Real-Time PCR C1000 Touch™, Bio-Rad Laboratories Inc., США; ДТ-96, ООО «НПО ДНК–Технология», Россия) и роторного (Rotor Gene 6000 и Rotor Gene Q, QIAGEN GmbH, Германия) типов, программа амплификации: 95 ºС – 15 мин (инкубация)/95 ºС – 5 с/60 ºС – 20 с (45 циклов). Детекция сигнала при 60 ºС.

Для расчета концентрации ДНК анализируемых видов уропатогенов использовали значения пороговых циклов (Ct) образцов и графиков, определяемых двумя ДНК-стандартами, содержавшими 10^2 и 10^5 копий/реакцию каждой ДНК-мишени. ДНК-стандарты представляли собой смесь клонированных фрагментов ДНК в плазмидный вектор pGEM-T каждого из выявляемых таксонов бактерий. Измерение концентрации рекомбинантных контрольных образцов проводили с использованием комплекта реагентов CQS-Bla (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва).

Биологическим материалом для ПЦР тестирования служила средняя порция мочи, полученная при естественном мочеиспускании или через катетер. Образцы были помещены в стерильные контейнеры для сбора биологического материала объемом 120 мл с устройством вакуумного переноса из ёмкости в пробирку со стабилизатором. Преаналитический этап к процедуре выделения нуклеиновых кислот включал в себя получение осадка в объёме 100 мкл из 1 мл биоматериала путем центрифугирования в течение 10 мин при 10 000 g (12 тыс об/мин) и удаления надосадочной жидкости. Экстракцию ДНК из образцов биологического материала проводили с использованием комплекта реагентов «Рибо-преп» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора), основанного на принципе осаждения нуклеиновых кислот (преципитации), а также «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора).

Критерии оценки аналитических характеристик и надёжности метода количественного определения

Аналитическую чувствительность методики тестировали на основании анализа результатов амплификации, используя в качестве образцов последовательные разведения ДНК,

выделенной из соответствующих микроорганизмов, в модельных пробах средней порции мочи. Каждое разведение ДНК-мишеней проверяли в повторах, с дальнейшим определением предела обнаружения минимальной концентрации ДНК каждого аналита и линейного диапазона измерения в геном-эквивалент на мл путём запуска ПЦР-РВ постановок на приборах Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США).

Апробацию методики для определения аналитической специфичности проводили с использованием ДНК панели, выделенной из контрольных штаммов ATCC (American Type Culture Collection, США) следующих таксонов микроорганизмов: *Acinetobacter baumanii, Bacteroides fragilis, Bordetella ssp., Clostridium ssp., Corynebacterium jeikeium, Eggerthella lenta, Enterobacter ssp., Enterococcus ssp., Erysipelothrix rhusiopathiae, Escherichia coli, Gardnerella vaginalis, Haemophilus ssp., Klebsiella ssp., Listeria ssp., Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Neisseria ssp., Peptoniphilus anaerobius, Proteus ssp., Propionibacterium acnes, Pseudomonas aeruginosa, Rhodococcus equi, Salmonella enterica, Serratia marcescens, Staphylococcus ssp., Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus ssp., Candida ssp.*.

Точность количественных измерений проверяли тестированием нескольких серий ПЦР-смесей путём запуска ПЦР-РВ постановок на амплификаторах. Оценивали количественные результаты повторяемости и правильности, а также внутрисерийную, межсерийную и межлабораторную воспроизводимость,

Критериями оценки прецизионности молекулярно-биологического метода количественного определения уропатогенов являлись стандартное отклонение (SD), коэффициент вариации (CV, %) и систематическая погрешность (B, %) значений логарифмов концентраций ДНК-мишеней.

Для изучения влияния потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале - моче. Исследовали модельные образцы содержащие и не содержащие потенциально интерферирующие вещества с добавлением ДНК-мишеней.

Для оценки влияния эндогенных веществ использовали лактоферрин, альбумин, глюкозу, билирубин, мочевину, гемоглобин, слизь, мочевую кислоту, аскорбиновую кислоту, ацетон в различных концентрациях. Концентрации эндогенных веществ были определены с учетом литературных данных по изучению ингибиторов ПЦР и верхней границы нормы физиологических показателей. Самая высокая концентрация эндогенных веществ превышала в несколько раз концентрацию ингибирующих ПЦР веществ по литературным данным и верхней границы нормы.

Для оценки влияния высокой концентрации экзогенного вещества использовали препараты: «Мирамистин», «Фурагин», «Фурадонин», «Фосфомицин» в 2 концентрациях. Концентрацию экзогенного вещества определяли, как объем препарата к объему исследуемого образца. Максимальная концентрация экзогенного вещества соответствовала максимально возможному объему в образце.

Результаты

Согласно результатам наших исследований аналитическая чувствительность для специфичных мишеней для *S. agalactiae* от 200 ГЭ/мл, общего содержания ДНК бактерий от 10^4 ГЭ/мл, для остальных ДНК-мишеней от 500 ГЭ/мл с линейным диапазоном измерений до 10^7 ГЭ/мл (табл. 1).

Таблица 1. Аналитическая чувствительность и линейный диапазон ПЦР методики для идентификации уропатогенов

ДНК-мишень микроорганизмов	Предел обнаружения, ГЭ/мл	Диапазон измерения, ГЭ/мл
E. coli	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
K. pneumoniae	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Proteus spp.	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Enterobacterales	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
P. aeruginosa	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Streptococcus agalactiae	$2x10^2$	$5x10^2 – 10^7$
Enterococcus spp.	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Streptococcus spp.	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Staphylococcus spp.	$5x10^2$	$10^3 – 10^7$
Общее содержание ДНК бактерий	10^4	$10^4 – 10^7$

При тестировании ПЦР смесей с ДНК из контрольных штаммов ATCC (American Type Culture Collection, США) установлено, что методика на основе ПЦР-РВ выявляет соответствующие ДНК-мишени, показывая 100% аналитическую специфичность.

Установлено, что коэффициенты вариации прецизионности не превышали 5%, а показатели правильности находились в пределах 0,5 lg, систематическая погрешность не превышала 5%. Данные показатели характеризуют методику как аналитическую систему с низкими показателями случайных погрешностей и высокими – сходимости и воспроизводимости измерений.

Оценка интерферирующего действия вероятных эндогенных веществ в моче показала, что лактоферрин, глюкоза, билирубин, мочевина, гемоглобин не оказывают влияния на количественные результаты ПЦР тестирования. Установлено, что защелачивание модельных

образцов мочи до уровня более pH 8 может сопровождаться ингибированием ПЦР при экстракции ДНК из образцов методом преципитации, тогда как закисление мочи до уровня менее pH 5 ингибирования не демонстрирует. Наличие слизи, альбумина, билирубина, мочевой кислоты, аскорбиновой кислоты, ацетона в моче в концентрациях, превышающих в несколько раз верхней границы допустимой нормы может оказывать интерферирующее воздействие на количественные показатели анализируемых аналитов в ходе ПЦР исследования.

Исследование экзогенных интерферентов показало, что ингибирующего влияния на ПЦР мирамистина не обнаружено, однако при высоких концентрациях Фурагина, Фурадонина и Фасфомицина в моче при использовании «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» для экстракции ДНК возможно.

Для нашей методики были валидированы жидкая и лиофилизированная формы ПЦР смесей, при чём использование последней возможно (помимо ручного способа) с помощью автоматизированных раскапывающих станций, которые в последние годы нашли широкое распространение в активно развивающейся лабораторной сфере РФ.

Обсуждение

Разработанное мультиплексное ПЦР-тестирование в рамках нашего исследования, при котором использовалось несколько праймеров для обнаружения нескольких ДНК мишеней одновременно, может значительно сократить стоимость и время, связанных с этим классом тестов, а также увеличить ценность его использования в клинической медицине. Так, в ходе валидации данной методики для идентификации основных уропатогенов на основе ПЦР-РВ на клинических образцах мочи от беременных и небеременных пациенток, детей амбулаторных и стационарных отделений, были получены высокие диагностические характеристики (чувствительность – 87-100%, специфичность – 85,9-100%) [23-25].

Заключение

Таким образом, разработанная нами методика обладает способностью идентифицировать заявленные ДНК мишени в ходе ПЦР-РВ при отсутствии неспецифических реакций, высокими показателями воспроизводимости количественных результатов, диагностической специфичности и чувствительности, что позволяет использовать её для количественного определения основных уропатогенов в моче при инфекциях мочевыводящих путей и получать результат в течение всего нескольких часов. Применение методики позволит своевременно и рационально назначать антибиотикотерапию при ИМП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоглазова И.П., Трошина А.А., Потешкина Н.Г. Инфекции мочевыводящих путей: часть 2 // Лечебное дело. – 2018. – №2. – С.18-25.

2. Васильева Е.И., Соколова В.И., Сычев Д.А., Бабарина М.Б. Видовой состав уропатогенов и диапазон чувствительности к антибиотикам основных возбудителей, выделенных из мочи больных с мочекаменной болезнью // Антибиотики и химиотерапия. 2017. – №7-8. – С.8-14.

3. Захарова И.Н., Горяйнова А.Н., Мумладзе Э.Б. Инфекция мочевой системы у детей: Современные подходы к диагностике и лечению // МС. – 2011. – №3-4. – С.48-54.

4. Diagnosis and treatment of urinary tract infections in children. White B. https://www.aafp.org/afp/2011/0215/p409.html. AmFam Physician. – 2011. – 83. – С.409–415.

5. Малаева Е. Г. Инфекции мочевыводящих путей и микробиота // Проблемы здоровья и экологии. – 2021. – №3. – С.5-14.

6. Захарова И.Н., Османов И.М., Мачнева Е.Б., Мумладзе Э.Б., Касьянова А.Н., Айсанова М.Р. От бактериурии до микробиома мочевых путей: эволюция взглядов ученых и клиницистов // МС. – 2018. – №17. – С. 168-176.

7. Рафальский В.В., Моисеева Е.М. Эпидемиология неосложнённых внебольничных инфекций мочевыводящих путей в Российской Федерации // Вестник урологии. – 2018. – №2. – С. 30-37.

8. Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «Дармис-2018» // КМАХ. – 2019. – №2. – С.134-146.

9. https://map.antibiotic.ru/?id=OpHil35BY04BY20 (за период 2015-2020 гг).

10. Bonkat, G., et al. EAU Guidelines on Urological Infections. Edn. presented at the EAU Annual Congress Milan Italy 2021. ISBN 978-94-92671-13-4. [Electronic resource]. [date of access 2021 July 07]. Available from: https://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/

11. Пушкарь, Д. Ю. Тактика врача-уролога : практическое руководство / под ред. Д. Ю. Пушкаря. - Москва : ГЭОТАР-Медиа. – 2020. - 96 с.: ил. - (Серия "Тактика врача"). - DOI : 10. 33029/9704-5202-8-TER-2019-1-96.

12. Белоглазова И.П., Трошина А.А., Потешкина Н.Г. Инфекции мочевыводящих путей: часть 1 // Лечебное дело. – 2018. – №1. – С.18-25.

13. Захарова И. Н., Османов И. М., Мумладзе Э. Б., Мачнева Е. Б., Тамбиева Е. В., Бекмурзаева Г. Б. Бессимптомная бактериурия: смена общепринятого взгляда // МС. – 2017. –№19. – С.162-167.

14. Русанова Е.В. Современный подход к микробиологическому исследованию мочи: пособие для врачей / Е.В. Русанова, В.В. Дутов, А.В. Палиенко, А.А. Румянцев, Б.Ф. Шуляк. –М.: Изд-во ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. – 2015. – 36с.

15. Алексеенко И.В., Иванова Л.А. Современный взгляд на проблему инфекций мочевыводящих путей у беременных с сахарным диабетом 1 типа //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 12 (часть 7) – С. 1174-1179.

16. Боронина Л.Г. Инновации в культуральных исследованиях бактериурии при диагностике инфекций мочевыводящих путей. Медицинский алфавит. 2017. – 1(6). – С.21-24.

17. Припутневич Татьяна Валерьевна, Мелкумян А.Р. (2016). Масс-спектрометрия - новое слово в клинической микробиологии. // Клиническая лабораторная диагностика. 61 (12). – С. 842-848.

18. Чеботарь И.В., Поликарпова С.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III—IV групп патогенности. Лабораторная служба. – 2018. – 7(2). – С.78-86.

19. Ferreira L, Sánchez-Juanes F, González-Ávila M, Cembrero-Fuciños D, Herrero-Hernández A, González-Buitrago JM. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by MALDI TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry). J. Clin Microbiol. – 2010. – 48. – pp.2110-5.

20. Oros D., Ceprnja M., Zucko J. et al. Identification of pathogens from native urine samples by MALDI-TOF/TOF tandem mass spectrometry. Clin Proteom 17. – 25. – 2020. https://doi.org/10.1186/s12014-020-09289-4.

21. Torres-Sangiao E, Lamas Rodriguez B, Cea Pájaro M, Carracedo Montero R, Parajó Pazos N, García-Riestra C. Direct Urine Resistance Detection Using VITEK 2. Antibiotics. – 2022. – 11(5). – 663. https://doi.org/10.3390/antibiotics11050663.

22. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK and Virdi JS (2015) MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Front. Microbiol. – 6. – P.791. doi: 10.3389/fmicb.2015.00791.

23. Хуснутдинова Т.А., Савочкина Ю.А., Щипицына Е.В., и др. Применение количественной мультиплексной ПЦР в реальном времени для выявления возбудителей инфекций мочевыводящих путей у беременных женщин. Педиатр. – 2014. – V(3). – С. 37-41.

24. Шедько Е.Д., Лазарева А.В., Зоркин С.Н., Новикова И.Е., Вершинина М. Г., Тимошина О.Ю., Головешкина Е.Н., Фисенко А.П., Акимкин В.Г. Количественная мультиплексная ПЦР в реальном времени как метод детекции значимой бактериурии у детей**.** Российский педиатрический журнал. – Т. 23. – номер 5. – 2020. – С. 284-290.

25. Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Головешкина Е.Н., Громова А.В., Скачкова Т.С., Крысанова А.А., Савичева А.М. Быстрый анализ мочи на значимую бактериурию и бета-лактамную резистентность уропатогенных энтеробактерий. Акушерство и гинекология. – 2023. – 2 – С. 87-97. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.266/

ОБОСНОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ПЕРФУЗИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

П.А. Дроздов, А.В. Шабунин

Актуальность

Трансплантация является лучшим методом лечения пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек и печени, но ее доступность ограничена дефицитом донорских органов. [1]. Успехи трансплантации привели к тому, что “листы ожидания” на операцию год от года растут во всем мире [2]. Прогрессирующий дефицит донорских органов привел к тому, что с целью увеличения количества операций в последнее время постоянно расширяются критерии для доноров почки и печени [3]. Необходимо отметить, что отдаленные результаты трансплантаций от идеального донора и донора с расширенными критериями несколько отличаются. Так, 1- и 5-летняя выживаемость почечного трансплантата от идеального донора составляет 92% и 70% соответственно, а от донора с расширенными критериями – 80% и 44% соответственно [4]. Это различие объясняется худшей переносимостью холодовой ишемии органов от донора с расширенными критериями. Реперфузия играет не менее важную роль в повреждении графтов солидных органов. Так, по мере восстановления окислительного метаболизма происходит значительное и быстрое высвобождение активных форм кислорода (АФК), что приводит к апоптозу клеток. Образование активных форм кислорода влечет за собой высвобождение провоспалительных цитокинов, привлекающих клетки иммунной системы реципиента к аллотрансплантату. Рекрутированные лейкоциты связываются с молекулами адгезии на эндотелиальных клетках, закупоривая капилляры и увеличивая проницаемость эндотелия. В результате этого сложного провоспалительного каскада происходит повреждение нефронов, гепатоцитов и клеток желчных протоков [5]. Необходимо понимать, что, чем менее выраженным будет повреждение донорских органов в ходе консервации, тем менее критичным станет для них реперфузионное повреждения, ввиду того что ее клетки будут обладать большим восстановительным потенциалом. Таким образом, для улучшения качества трансплантатов солидных органов, а также для эффективного использования трансплантатов, полученных от доноров с расширенными критериями необходима разработка и внедрение в клиническую практику перфузионных технологий, направленных на снижение ишемически-реперфузионного повреждения клеток трансплантатов.

Материалы и методы

Машинная оксигенированная холодовая перфузия почечного трансплантата по методике Боткинской больницы:

При разработке методики Боткинской больницы по машинной оксигенированной холодовой перфузии мы придерживались следующих принципов:

1. Обеспечение полной асептичности процедуры.

2. Поддержание на протяжении всей процедуры перфузии температуры почечного трансплантата в диапазоне от 4-8 °С.

3. Обеспечение на протяжении всей процедуры перфузии насыщения консервирующего раствора кислородом.

4. Обеспечение постоянного давления консервирующего раствора в почечной артерии трансплантата.

Оксигенированная холодовая перфузия трансплантата производилась нами с помощью модуля аппарата искусственного кровообращения с роликовым насосом. Для выполнения первого принципа машинной перфузии мы использовали стерильные одноразовые расходные материалы, предназначенные для проведения процедуры искусственного кровообращения, стерильные канюли для катетеризации артерии (-ий) трансплантата, стерильный консервирующий раствор Бретшнайдера (НТК «Кустодиол») и охлажденный физиологический раствор.

После доставки почечного трансплантата в центр трансплантации последний извлекался из транспортного контейнера. Почка погружалась в ёмкость с консервантом и хладагентами. Проводилась предварительная хирургическая обработка трансплантата. В устье почечной артерии вводилась мягкая силиконовая канюля, прикреплённая ранее к артериальной магистрали, и фиксировалась к аортальной площадке при помощи 2-3-х узловых или П-образных швов после чего начиналась перфузия (рисунок 1А). Необходимая объёмная скорость циркуляции консерванта зависела от гидростатического давления в артериальной магистрали. Скорость подачи консерванта постепенно увеличивалась регулятором, пока не будет достигнуто целевое давление – 30-мм. рт. ст. Показатель объемной скорости перфузии находилась в пределах от 100 до 200 мл/мин. Процедура проводилась под постоянным контролем хирурга. Контролировалась герметичность соединения артериальной канюли и почечной артерии, поток оттекающего из почки перфузата. Температура раствора контролировалась каждые 15 минут. По мере необходимости производили замену хладагентов. В течение процедуры при снижении давления в системе, что косвенно указывало на уменьшение сопротивления в микроциркуляторном русле почки, проводилась коррекция скорости подачи консерванта для поддержания целевого уровня давления. Индекс резистентности определялся как отношение давления в системе к объемной скорости перфузии.

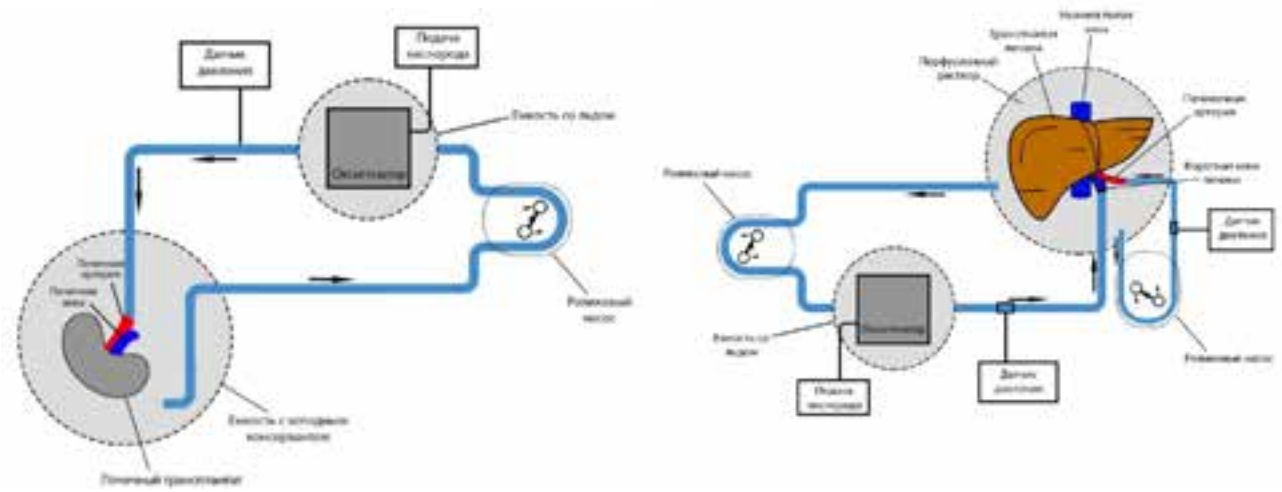


Рисунок 1. А. Схема проведения машинной оксигенированной холодовой перфузии почечного трансплантата по методике Боткинской больницы, Б. Схема проведения машинной оксигенированной холодовой перфузии печеночного трансплантата по методике Боткинской больницы

Для оценки безопасности и эффективности машинной оксигенированной холодовой перфузии почечного трансплантата мы провели проспективный анализ результатов лечения 80 реципиентов почечного трансплантата, которые составили I группу наблюдения. Главным критерием включения пациентов в данную группу стало получение трансплантата от донора с расширенными критериями. Выбор способа консервации почечного трансплантата (статическая холодовая консервация либо статическая холодовая консервация + машинная оксигенированная холодовая перфузия) осуществлялся с помощью рандомизации методом конвертов. На основании выбранного метода пациенты были разделены на две подгруппы. Подгруппу I.I составили 40 наблюдений, в которых, наряду со статической холодовой консервацией использовалась машинная оксигенированная холодовая перфузия почечного трансплантата, подгруппу I.II – 40 наблюдений, в которых использовалась только статическая холодовая консервация. Между группами не было получено статистически значимых различий по исходным характеристикам донора и реципиента ($p>0,05$).

Машинная оксигенированная холодовая перфузия печеночного трансплантата по методике Боткинской больницы:

Машинная оксигенированная холодовая перфузия трансплантата печени проводилась в условиях операционной отделения трансплантации с использованием аппарата искусственного кровообращения. Трансплантат печени в асептических условиях извлекался из транспортного контейнера в емкость с охлажденным до 4-10°C консервирующим раствором Бретшнайдера (НТК «Кустодиол»), производилась канюляция воротной вены и артерии трансплантата.

Процедура перфузии осуществлялась посредством двух роликовых насосов, двух перфузионных контуров и одного оксигенатора (рисунок 1Б). Объемные скорости потоков,

определяемых работой роликовых насосов, подбирались оператором с поддержанием перфузионного давления 5 мм рт.ст. для портальной системы и 25 мм рт. ст. для артериальной системы. Эффлюент изливающийся через нижнюю полую вену в емкость, куда помещен трансплантат, забирался в перфузионную систему двумя закрепленными на дне емкости канюлями. Температура перфузата поддерживалась в пределах 10^0C в течение всей процедуры. Каждые 30 минут осуществлялся контроль лабораторных показателей перфузии: КЩС (с определением парциального давления кислорода), АСТ и АЛТ. Целевое PaO2 перфузионного раствора поддерживалось на уровне 400-600 мм рт. ст. В ходе перфузии выполнялась предтрансплантационная обработка трансплантата и проверка его сосудов на герметичность. Машинная перфузия прекращалась по завершению этапа гепатэктомии непосредственно перед погружением трансплантата в рану.

Для оценки безопасности и эффективности машинной оксигенированной холодовой перфузии печеночного трансплантата мы провели проспективный анализ результатов лечения 63 реципиентов печеночного трансплантата, которые составили II группу наблюдения. На основании выбранного метода пациенты были разделены на две подгруппы. Выбор способа консервации печеночного трансплантата (статическая холодовая консервация либо статическая холодовая консервация + машинная оксигенированная холодовая перфузия) осуществлялся с помощью рандомизации методом конвертов. В подгруппу II.I вошли 29 реципиентов, при трансплантации печени которых после статической консервации проводилась гипотермическая оксигенированная машинная перфузия. В подгруппу II.II включены 34 наблюдения, в которых консервация трансплантата печени осуществлялась только посредством статического холодового хранения. Между группами не было получено статистически значимых различий по исходным характеристикам донора и реципиента ($p>0,05$).

Результаты

Трансплантация почки:

Для оценки состояния митохондрий мы проводили электронную микроскопию нефробиоптатов до и после перфузии и сравнили результаты с изменениями нефробиоптатов без перфузии. Без перфузии отмечали изменение ультраструктурной организации клеток, повреждение структур почки статической холодовой консервацией (рисунок 2).

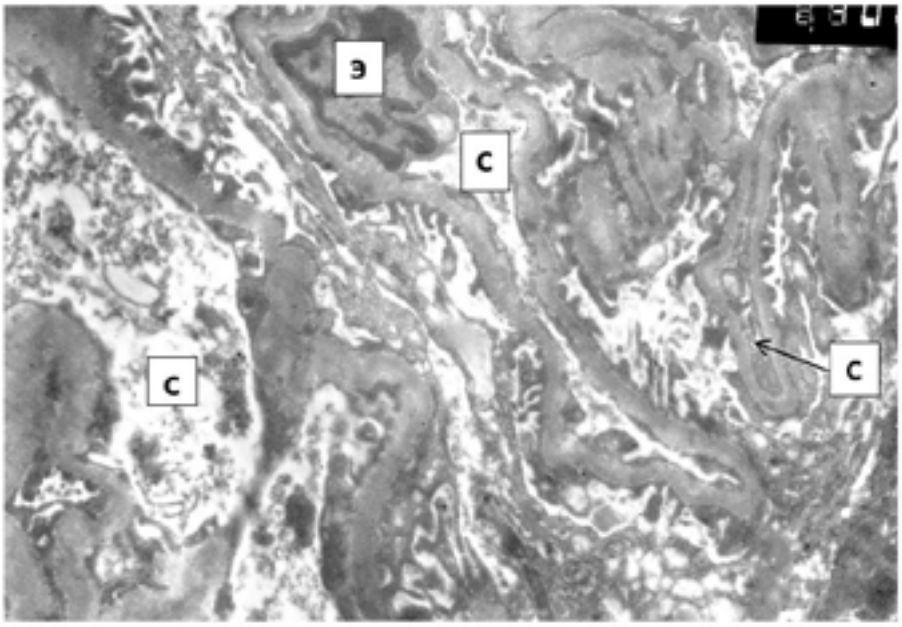


Рисунок 2. Просвет капилляров клубочка (С) – сужен и заполнен хлопьевидным содержимым. Эндотелиоцит (Э) с крупным ядром неправильной формы, с узким ободком цитоплазмы, клеточные органеллы не определяются. Ув. 9000

В подгруппе больных, кому проводилась машинная оксигенированная холодовая перфузия после изъятия почечного трансплантата, митохондрии определялись как в подоцитах почечного клубочка, так и в эпителиоцитах дистального и проксимального фрагментах нефрона (рисунок 3).

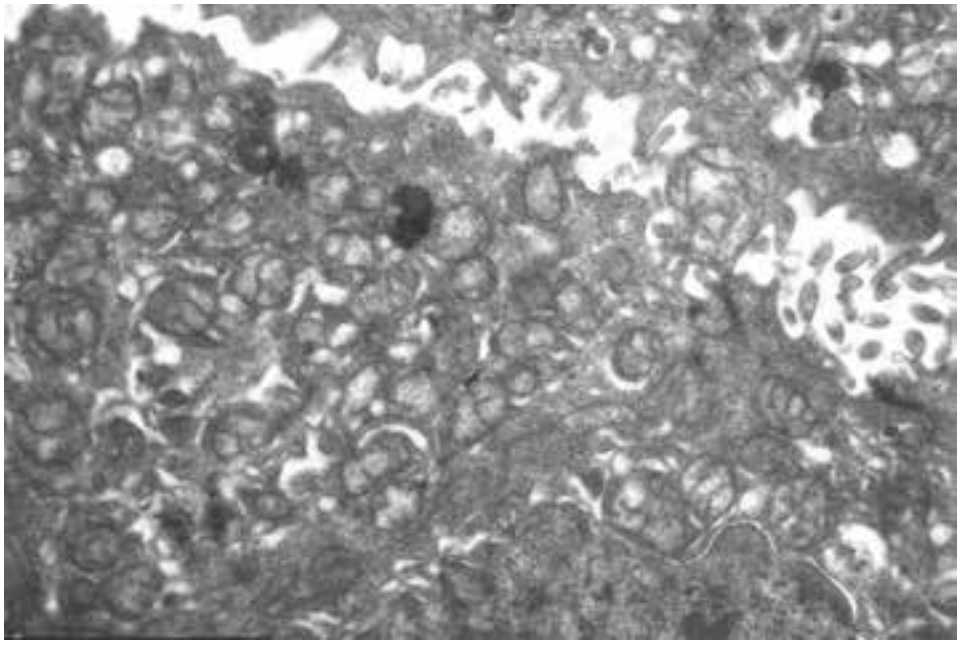


Рисунок 3. Дистальный фрагмент нефрона. В цитоплазме клетки большое количество митохондрий с сохраненными кристами. Межклеточные контакты сохранены. Ув. 14000

Частота отсроченной функции почечного трансплантата (ОФПТ) в подгруппе I.I (машинная перфузия) развилась составила 7,5% (3/40) и была в 2,22 раза ниже, чем в подгруппе I.II (статическая консервация) – 30% (12/40). Различия были статистически значимыми (p = 0,031).

Частота осложнений в подгруппе использования машинной оксигенированной перфузионной консервации была также в 3,37 раза выше, чем в контрольной, с достижением уровня статистической значимости (p = 0,02). В подгруппе использования машинной оксигенированной гипотермической перфузии средняя длительность госпитализации была достоверно ниже, чем подгруппе статической холодовой консервации: 13,11 ± 1,46 (10-15) против 24,45 ± 2,83 (17-43) (p = 0,036). Послеоперационной летальности не зафиксировано ни в одной из подгрупп (таблица 1).

Таблица 1. Сравнительный анализ непосредственных результатов различных методов консервации почечного трансплантата

Показатель	Машинная оксигенированная холодовая перфузия (n – 40)	Статическая холодовая консервация (n – 40)	p
Среднее время статической холодовой консервации, мин	411,11 ± 110,24 (311-525)	612,33 ± 178,88 (133-1180)	0,043
Среднее время оксигенированной гипотермической перфузии, мин	164,34 ± 22,44 (150-210)	0	0,00001
Среднее время тепловой ишемии, мин	28,11 ± 2,27 (23-41)	27,48 ± 1,75 (21-43)	0,846
Среднее время операции, мин	209,45 ± 41,36 (170-260)	254,27 ± 44,27 (190-300)	0,637
Средняя кровопотеря, мл	104,36 ± 21,84 (50-200)	101,36 ± 15,46 (50-210)	0,942
Послеоперационные осложнения	2 (6,66%)	30 (22,5%)	0,02
Функция трансплантата: *немедленная* *отсроченная*	 37 3	 28 12	0,031
Средний койко-день	13,11 ± 1,46 (10-15)	24,45 ± 2,83 (17-43)	0,036
Летальность	0 (0%)	0 (0%)	1

При анализе отдаленных результатов в подгруппе машинной перфузии одно- и двухлетняя выживаемость трансплантатов составила 92,5 и 80,1% соответственно, тогда как в подгруппе статической холодовой консервации – 72,5 и 65,9% соответственно (p = 0,041).

Трансплантация печени:

Для оценки состояния митохондрий гепатоцитов мы проводили электронную микроскопию биоптатов печеночных трансплантатов до и после перфузии и сравнили результаты с изменениями биоптатов без перфузии.

В подгруппе машинной перфузии хроматин в ядрах гепатоцитов имел типичную организацию, цитоплазма была заполнена везикулами и митохондриями, цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума не расширены, матрикс митохондрий электронно плотный, кристы немногочисленные, отмечалась незначительное просветление цитозоля и набухания цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (рисунок 4А). Напротив, при статической консервации печени в гепатоцитах были зафиксированы выраженные ультраструктурные изменения. Имела место существенная реорганизация структуры митохондрий, появление стопок мембран, набухание гранулярного эндоплазматического ретикулума (рисунок 4Б).

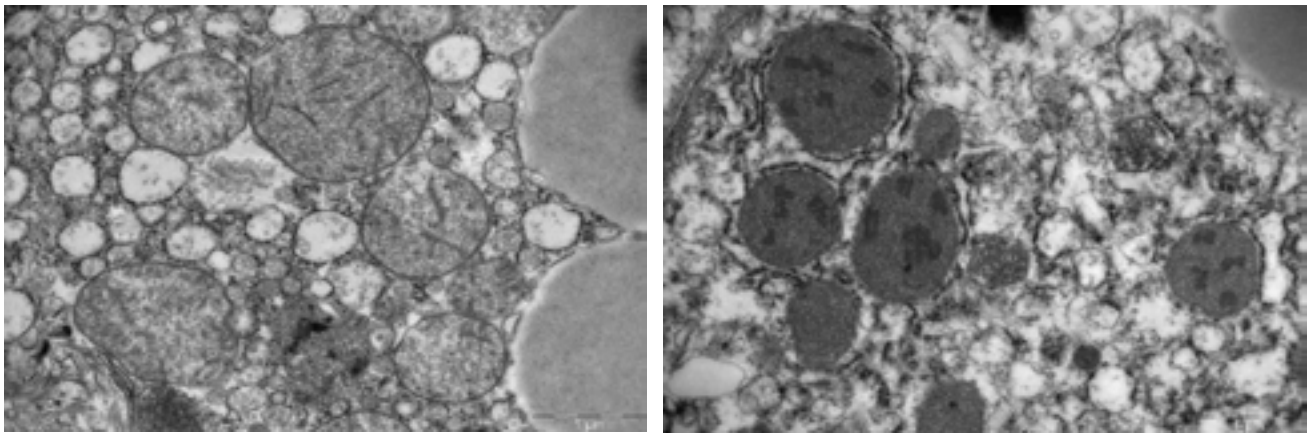


Рисунок 4. Электронная микроскопия трансплантата печени: А – после гипотермической оксигенированной перфузии, Б – после статической холодовой консервации

Пиковые концентрации АСТ и АЛТ в первую неделю после трансплантации в подгруппе II.I применения гипотермической перфузии составили 1052 (IQR: 712-1842) ЕД/л и 1213 (IQR: 613-2032) ЕД/л, что было статистически значимо ниже, чем в подгруппе II.II ($p=0,002$ и $p<0,001$, соответственно). В подгруппе II.II эти показатели составили 1943 (IQR: 1294-5214) ЕД/л и 2318 (IQR: 1032-6219) ЕД/л. При этом статистически значимых различий по частоте развития ранней дисфункции трансплантата печени (РДТП) выявлено не было ($p=0,106$). Тем не менее, в группе перфузионной консервации она была ниже: 41,3% (12/29) против 61,8% (21/34). В группе II.II в 2 наблюдениях развитие РДТП оказалось необратимым, что было расценено как первично-нефункционирующий трансплантат (ПНФТ), и привело к ранней послеоперационной летальности реципиентов в обоих случаях. В 1 наблюдении была выполнена ретрансплантация по поводу тромбоза печеночной артерии. В подгруппе II.I послеоперационной летальности,

ПНФТ, и ретрансплантаций не было. Развитие осложнений в раннем послеоперационном периоде оценивалось с помощью расчета CCI (Compherensive complication index) на момент выписки. В подгруппе II.I его медиана составила 0 (IQR: 0-22,6), в II.II - 27,6 (IQR: 0-100), различия были статистически значимыми (p=0,001). Аналогично, статистически значимые различия были зафиксированы по времени нахождения реципиента в ОРИТ и общей длительности госпитализации (p=0,042 и p=0,028) – они были меньше в группе применения перфузионной консервации.

Обсуждение

Применение машинной оксигенированной холодовой перфузии по разработанной методике при использовании доноров с расширенными критериями позволило снизить частоту развития отсроченной функции почечного трансплантата с 30 до 7,5% (p = 0,036), послеоперационные осложнения с 22,5 до 6,66% (p = 0,02) и увеличить двухлетнюю выживаемость почечных трансплантатов с 65,9 до 72,5%.

Необходимо отметить, что использование процедуры оксигенированной гипотермической перфузии увеличивает стоимость оперативного вмешательства за счет необходимости использования дополнительных объемов консервирующего раствора и расходных материалов, а также требует привлечения дополнительного медицинского персонала. Однако снижение частоты послеоперационных осложнений и среднего койко-дня после операции уменьшает стоимость лечения данной группы пациентов, что кратно компенсирует расходы на применение разработанной методики.

Методика машинной оксигенированной холодовой перфузии почечного трансплантата – уникальная технология для Российской Федерации, позволяющая улучшить непосредственные и отдаленные результаты трансплантации почек, полученных от доноров с расширенными критериями.

В части нашего исследования, посвященной применению гипотермической оксигенированной перфузии печеночного трансплантата, полученного от доноров с расширенными критериями было так же связано с лучшими результатами трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде. По сравнению со статической консервацией, степень ишемического повреждения печени после выполнения перфузии была менее значительной, что наглядно подтвердили результаты электронного микроскопического исследования. Интенсивность реперфузионного повреждения трансплантата, определяемая по пиковому уровню трансаминаз в течение первой недели, в группе перфузионной консервации была статистически значимо ниже, чем при статической консервации (p<0,05). Мы не обнаружили статистически значимого снижения риска развития ранней дисфункции трансплантата (p=0,106), однако, связываем это с небольшим размером выборки. В то же время было отмечено достоверное

снижение показателя CCI (p=0,001), характеризующего распространенность послеоперационных осложнений, длительности нахождения реципиента в ОРИТ (p=0,042) и стационарного лечения (p=0,028).

Таким образом, гипотермическая оксигенированная перфузия печеночных трансплантатов ex situ является безопасным и эффективным методом консервации трансплантата печени. Ее применение при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями позволяет снизить тяжесть ишемически-реперфузионного повреждения органа и дать дополнительную оценку пригодности органа к пересадке. Внедрение данной технологии с одной стороны позволяет качественно улучшить результаты трансплантации печени в послеоперационном периоде, а с другой – безопасно увеличить доступность трансплантационной помощи за счет использования субоптимальных доноров.

Заключение

Научно-обоснованные, разработанные в Боткинской больнице и внедренные в клиническую практику технологии машинной перфузии трансплантатов солидных органов позволяют улучшить как непосредственные, так и отдаленные результаты оперативных вмешательств, а кром того открывают новые возможности в расширении пула эффективных доноров органов, за счет возможности использования доноров с необратимой остановкой сердечной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lee H. S., Kang, M., Kim, B., & Park, Y. Outcomes of kidney transplantation over a 16-year period in Korea: An analysis of the National Health Information Database //Plos one. – 2021. – Т. 16. – №. 2. – С. e0247449.

2. Готье С. В., Хомяков С. М. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2019 году. XII сообщение регистра Российского трансплантологического общества //Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – №. 2. – С. 8-34.

3. Wang Z., Durai P., Tiong H. Y. Expanded criteria donors in deceased donor kidney transplantation–An Asian perspective //Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India. – 2020. – Т. 36. – №. 2. – С. 89.

4. Saat T. C., van den Akker, E. K., IJzermans, J. N., Dor, F. J., & de Bruin, R. W. Improving the outcome of kidney transplantation by ameliorating renal ischemia reperfusion injury: lost in translation? //Journal of translational medicine. – 2016. – Т. 14. – №. 1. – С. 1-9.

5. Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, Odeh-Ramadan R, Kinkhabwala M, Goldstein MJ, Ratner LE, Renz JF, Lee HT, Brown RS Jr, Emond JC. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. Am J Transplant. 2010 Feb;10(2):372-81. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02932.x. Epub 2009 Dec 2. PMID: 19958323.

ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ОФТАЛЬМОТОКСИЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н.Д. Евдокимов, М.А. Порошин, В.В. Лебединский, В.В. Сафандеев

ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора

Проблема использования химических веществ, являющихся офтальмотоксикантами, остаётся до сих пор неразрешённой. Офтальмотоксиканты встречаются среди обширной группы ксенобиотиков, включая пестициды. Так, промышленное использование пестицидов на полях авиаспособами, использование репеллентов, аромосвечей, дезсредств, особенно в местах массового скопления людей, несут в себе определённую угрозу состоянию офтальмологического здоровья населения. В настоящее время для оценки разного рода химического и биологического рисков начинают активно использовать искусственный интеллект (ИИ). Однако, для оценки рисков и управления ими прежде всего необходимо понимать, что их вызывает и как их фиксировать.

Изучение литературы показало, что ряд ксенобиотиков способен образовывать биоплёнки на поверхности глаз, что может являться одним из возможных патогенетических механизмов офтальмотоксичности. При офтальмотоксичности наблюдаются нарушения подвижности глазного яблока, изменение величины зрачков и их реакции на стимулы, анизокория и некоторые другие фенотипически выраженные особенности зрительной системы. Новые подходы к интеллектуальному анализу данных, включая ИИ, могут обеспечить прорывы там, где традиционные методы эксперимента сложнореализуемы.

Нам необходимо было понять, сможет ли ИИ помочь в оценке офтальмотоксичности. Для этого в нашем отделе были применены возможности ИИ для такого изучения при ингаляционном поступлении ксенобиотиков.

Анализ результатов работы показал, что ИИ способен распознавать подвижность глазного яблока и размеры зрачков у подопытных животных, однако необходимо вносить коррективы в его работу для улучшения алгоритмов распознавания и оценки.

Использование ИИ как основы для автоматизации ускоряет работу, делает её менее зависимой от оператора, а значит, более объективной. С другой стороны, всё ещё стоит вопрос валидации данной методики. Это и является перспективой последующего изучения возможности использования мощностей ИИ для оценки офтальмотоксичности в экспериментальных исследованиях на животных в токсикологических центрах.

МОДИФИКАЦИЯ СТЕКЛОИНОМЕРНОГО ЦЕМЕНТА КОЛЛОИДНЫМ РАСТВОРОМ ДЛЯ ФИКСАЦИИ НЕСЪЕМНЫХ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В УСЛОВИЯХ ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЯ

А.Л. Ермолович, Ю.Б. Воробьева, А.М. Ковалевский

A.L. Ermolovich, Yu.B. Vorobyova, A.M. Kovalevskiy

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

А.Л. Ермолович преподаватель кафедры общей стоматологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург.

Ю.Б. Воробьева кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей стоматологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург.

А.М. Ковалевский доктор медицинских наук, доцент кафедры общей стоматологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург.

Введение

На сегодняшний день в стоматологии большинство используемых материалов, инструментов и оборудования – зарубежного производства. По некоторым данным, эта цифра достигает порядка 90%.

С введением антироссийских санкций и последующих за ними проблем с логистикой, многие закупки либо в несколько раз увеличились в цене, либо вовсе стали невозможными.

Импортозамещение в стоматологии является частью стратегии ведения экономики и промышленной политики Российской Федерации, которая заключается в замене импортных товаров, пользующихся спросом на внутреннем рынке, товарами собственного производства.

Нарушение фиксации различных несъемных ортопедических конструкций, таких как коронки, вкладки, мостовидные протезы, может быть обусловлено несколькими факторами:

- недостатками физико-механических свойств фиксирующих стеклоиономерных материалов;
- микробным фактором, который в комплексе с недостатками физико-механических свойств материала приводят к его растворению в полости рта и к появлению краевой проницаемости под протезом;
- нарушением или небольшим изменением протокола препарирования твердых тканей зуба под конкретную ортопедическую конструкцию, что приводит к появлению «поднутрений»;
- несоблюдением рекомендованного протокола фиксации конструкции на соответсвующий материал [1, 2, 3].

Все эти факторы способствуют нарушению краевого прилегания фиксирующего цемента между твердыми тканями отпрепарированного ранее зуба и каркасом ортопедической конструкции, и к дальнейшим изменениям и повреждениям на границе ткани зуба и поверхности протеза [2, 3]. В итоге на практике ортопедическая конструкция оказывается несостоятельной, вследствие чего может развиться кариес зуба, перетекающий в его осложненные формы, такие как пульпит и периодонтит, которые, в свою очередь, могут привести к последующему удалению опорного зуба [1, 3].

Несъемные ортопедические конструкции фиксируются на стоматологические цементы, которые состоят из порошка и жидкости для замешивания. Все эти цементы обладают высокими физико-механическими показателями, биологической совместимостью с твердыми тканями зуба, оптимальным рабочим временем. И благодаря хорошим манипуляционным свойствам, а также высокой прочности на сдвиг, растяжение и сжатие, отсутствию токсического действия на пульпу зуба, оказанию противовоспалительного действия и стимуляции дентиногенеза, эти цементы нашли широкое применение в ортопедической стоматологии [1, 2, 3].

Фиксирующие стеклоиномерные цементы должны соответствовать определенным техническим требованиям, к которым относятся:

Таблица 1. Технические требования к материалам для фиксации (по ISO)

Физические свойства	Показатели
Толщина пленки	max 25 мкм
Прочность на сжатие	min 65 МПа
Показатель растворимости и дезинтеграции	max 0,2%
Рабочее время	min 2,0 мин.
Время затвердевания	max 7,5 мин.

Такие материалы позволяют избежать ряда осложнений при лечении заболеваний твердых тканей зуба и фиксации несъемных конструкций зубных протезов, во многом облегчить работу врача-стоматолога. Однако довольно высокая цена зарубежных аналогов не позволяет использовать их в практической деятельности достаточно широко [1, 2, 3].

Цель: повышение эффективности фиксации несъемных ортопедических конструкций в условиях импортозамещания.

Материалы и методы. Поставленная цель достигается путем улучшения свойств материалов для постоянной фиксации за счет применения разработанной ранее жидкости на основе коллоидного раствора TiO_2 для замешивания стеклоиономерного цемента, который отвечает всем ранее перечисленным физико-механическим и манипуляционным требованиям.

Для исследования использовали водозатворимые стеклоиономерные фиксирующие материалы Aqua Meron (VOCO) и Ортофикс С (ВладМиВа) для фиксации несъемных конструкций зубных протезов. Они отличается тем, что при их замешивании, согласно инструкции, используется дистиллированная вода [4].

Ортофикс-Аква С (ВладМиВа) обладает хорошей прочностью на сжатие (61-90 МПа), адгезией (3.8 МПа) и текучестью. Aqua Meron (VOCO) обладает высокой прочностью на сжатие (90-110 МПа) и адгезией (5 МПа), эти показатели выше, чем у Ортофикс-Аква С (ВладМиВа).

Для осуществления поставленной цели мы предлагаем заменить дистиллированную воду на коллоидный раствор TiO_2, что закономерно позволит улучшить физико-механические и манипуляционные свойства данных материалов [4].

Коллоидный раствор TiO_2 содержит наночастицы коллоида диоксида титана (TiO_2) с удельной поверхностью 200±5 м2/г и средним размером первичных частиц 12 нм. Использован изготовленный в «Национальном исследовательском технологическом университете МИСиС» коллоидный раствор наночастиц диоксида титана в массовой концентрации 10^{-3}-10^{-5}%, представляющий собой дистиллированную воду, в которой посредством высокочастотных разрядов между электродами из титана инициированы электродуговые пробои для эрозии их торцевой поверхности электродов и отделения наноразмерных частиц диоксида титана размером 0,5-3,0 нм [4].

Для проведения лабораторного исследования использовали образцы безводных стеклоиономерных цементов Aqua Meron (VOCO) и Ортофикс С (ВладМиВа). Порошки материалов замешали на дистиллированной воде при помощи шпателя на стекле в течении 30 секунд согласно инструкции, предоставленной производителем. Аналогичную процедуру проводили, но в качестве жидкости для замешивания использовали водный раствор коллоидных частиц титана (TiO_2). Всего подготовили 40 образцов: 10 образцов Aqua Meron (VOCO), замешанных на дистиллированной воде и 10, замешанных на коллоидном растворе диоксида титана, а также 10 образцов Ортофикс С (ВладМиВа), замешанных на дистиллированной воде и 10, замешанных на коллоидном растворе диоксида титана. Далее проводили исследование рабочего времени цементов и времени окончательного отверждения, а также определение силы сжатия на разрывной машине SHIMAZU [4].

Рисунок 1. Изготовление образца

Для определения изменения рабочего времени исследуемых материалов, замешанных на коллоидном растворе, подготовленную замешанную цементную массу наносили на заготовленные ранее образцы металлокерамической ортопедической конструкции, которые впоследствии фиксировали на отпрепарированной коронковой части ранее удаленного по медицинским показаниям зуба. Фиксация проводилось согласно общепринятым правилам фиксации металлокерамических ортопедических конструкций. Рабочее время измеряли при помощи секундомера и оценивали по возникновению деформации фиксирующего материала при помощи гладилки вокруг зафиксированной части металлокерамической ортопедической конструкции на культе зуба [4].

Для проведения анализа окончательного времени отверждения исследуемых материалов, порошок замешивали на коллоидном растворе диоксида титана, и готовую цементную массу вносили в готовую пластмассовую форму для изготовления исследуемого образца в форме диска высотой 3 мм и диаметром 5 мм. Время отверждения материала замеряли при помощи секундомера, а степень отверждения проверяли посредством воздействия на образец шпателем каждые 30 секунд, далее визуально выявляли деформации в образце материала. Степень окончательного отверждения определяли по принципу прекращения появления на поверхности образца материала деформаций поверхности, оставленных инструментом. Затем, после окончательного отверждения цемента, готовый образец извлекали из формы [4].

Для определения прочности на сжатие полученные образцы помещали между двумя пластинами на аппарате SHIMAZU и оказывали давление на них до появления и регистрации первой трещины в них. Полученные данные регистрировались и выводились на монитор компьютера в виде графика [4]. Данное исследование проводилось на базе НИЦ ВМедА.

Результаты

Применение для замешивания порошка стеклоиономерного цемента коллоидного раствора TiO_2 вместо дистиллированной воды позволяет существенно увеличить физико-механические свойства материала (прочность на сжатие), а также их рабочее время и время окончательного отверждения (патент на изобретение № 2788989 от 26.01.2023 г.).

Материалы, замешанные на коллоидном растворе TiO_2, выдерживают большую силу сжатия, что увеличит устойчивость несъемной ортопедической конструкции к жевательным нагрузкам, тем самым повышает качество постоянной фиксации. Например, прочность на сжатие Aqua Meron (VOCO), замешанного на коллоидном растворе, увеличилась на 22.74%. Прочность на сжатие Ортофикс С (ВладМиВа), замешанного на коллоидном растворе, увеличилась на 112.64%.

Таблица 2. Полученные результаты зависимости деформации материалов от силы сжатия

Показатель	Aqua Meron (VOCO)		Ортофикс С (ВладМиВа)	
	Замешан на воде	За мешан на TiO_2	Замешан на воде	За мешан на TiO_2
Сила сжатия (Н)	1331.47±27.64	1409.84±5.07 (p=0.012597)	298.99±1.21	3058.02±33.05 (p=0.000000)
Деформация (%)	41.50±1.73	90.49±0.52 (p=0.000000)	16.69±0.45	53.48±3.29 (p=0.000000)

Пролонгирование времени окончательного отверждения дает возможность для более точной припасовки протяженных конструкций с большим количеством опорных зубов, облегчает процедуру устранения излишков цемента из зубодесневой борозды, которые при фиксации выходят за границы конструкции. Время окончательного отверждения у Aqua Meron (VOCO) стало 7.04±0.09мин (p=0.008538), у Ортофикс С (ВладМиВа) стало 8.56±0.17мин (p=0.000000). Время отверждения Aqua Meron (VOCO), замешанного на коллоидном растворе TiO2, увеличилась в среднем на 7.98%. Время отверждения Ортофикс С (ВладМиВа), замешанного на коллоидном растворе, увеличилась в среднем на 91.93%. Продолжительное рабочее время обеспечивает более жидкую фазу материала, предпочтительную для фиксации ортопедических конструкций, что дает равномерное распределение материала между поверхностью каркаса и поверхностью культи зуба. Рабочее время у Aqua Meron (VOCO) составило 4.43±0.15сек (p=0.000002), у Ортофикс С (ВладМиВа) 10.31±0.23сек (p=0.000000). Рабочее время Ортофикс С (ВладМиВа), замешанного на коллоидном растворе TiO2, увеличилась в среднем на 31.34%. Рабочее время у Aqua Meron (VOCO), замешанного на коллоидном растворе, увеличилась в среднем на 48%.

Таблица 3. Полученные результаты исследования времени отверждения и рабочего времени материалов

Показатель	Aqua Meron (VOCO)		Ортофикс С (ВладМиВа)	
	Замешан на воде	За мешан на TiO_2	Замешан на воде	За мешан на TiO_2
Рабочее время (мин)	2.97±0.11	4.43±0.15	7.85±0.12	10.31±0,23
Время окончательного отверждения (мин)	6.52±0.15	7.04±0.09	4.46±0.19	8.56±0.17

Вывод

Таким образом, применение для замешивания порошка стеклоиономерного цемента вместо дистиллированной воды коллоидного раствора TiO_2 позволяет существенно увеличить прочностные качества и манипуляционные свойства фиксирующих материалов. Наилучшие результаты показали исследования отечественного материала Ортофикс С (ВладМиВа). В условиях импортозамещения, имея изначально показатели ниже, чем аналогичный аква цемент зарубежного производителя, замешивание на коллоидном растворе TiO_2, согласно разработанному способу, позволяет улучшить качество фиксации ортопедических конструкций, делая его более доступным для стоматологических клиник. Получен патент на способ улучшения физико-механических свойств аква стеклоиономерных цементов путем использования в качестве жидкости коллоидного раствора диоксида титана (TiO_2) вместо дистиллированной воды (патент на изобретение № 2788989 от 26.01.2023 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Биденко Н.В. Стеклоиономерные материалы и их применение в стоматологии. – М.: Книга плюс, 2003. – 120 с.

2. Каламкаров Х.А. Ортопедическое лечение с применением металлокерамических протезов. – М., 1996. – 176 с.

3. Селиванова Д.А. Материалы для постоянной фиксации ортопедических конструкций // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 4. С. 96–99.

4. Стеклоиономерный цемент для фиксации несъемных зубных протезов: патент 2788989 Российская Федерация, МПК A61B 5/16 от 26.01.2023 / Ю.Б. Воробьева, А.Л. Ермолович, А.М. Ковалевский; заявитель и правообладатель Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации. – № 2021137205; заявл. 15.12.2021; опубл. 26.01.2023.

ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА КОРИ МЕТОДОМ ПЦР. КЛЮЧЕВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ БЫСТРОЙ РАЗРАБОТКИ ПЦР-ТЕСТОВ

Т.Л. Замотаева*, Ю.Л. Лебедева, Е.А. Черкашин, В.Г. Акимкин

ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ул. Новогиреевская, д. 3А, г. Москва, 111123, Россия

**e-mail*: sazonova@pcr.ms

Введение

Эпидемия новой коронавирусной инфекции 2019 года еще раз подтвердила, что количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР) является золотым стандартом среди методов молекулярной диагностики для выявления возбудителей различных инфекционных заболеваний. Этот метод с высокой точностью позволяет в сжатые сроки получить информацию о наличии даже единичных копий ДНК или РНК возбудителя в клиническом материале или биологическом образце. В случае SARS-Cov-2, метод ПЦР широко использовался для определения геновариантов и, в отличии от методов секвенирования (по Сенгеру, NGS), позволял быстрее и, главное, дешевле получать необходимую для исследователя информацию. Стремительно распространяющаяся эпидемия быстро переросла в пандемию мирового масштаба, скорость появления новых, более опасных геновариантов вируса также оказывала сильное влияние на борьбу с пандемией. Эпидемические процессы обнажили острую биотехнологическую проблему необходимости быстрой разработки высококачественных ПЦР-тестов и их промышленного производства в кратчайшие сроки. В данной работе рассмотрена схема создания ПЦР-набора в максимально сжатые сроки на примере набора для выявления вируса кори человека (*Measles morbillivirus*). А также предлагается рассмотреть ключевые компоненты и технологии, необходимые для создания современного высокочувствительного ПЦР-набора для выявления любого инфекционного патогена.

Методы

В настоящем исследовании использовался биологический материал (мазки из рото- и носоглотки), полученный от пациентов с симптомами вируса кори человека (*Measles morbillivirus*), далее кори, либо пациентов, которые не имели симптомов, но контактировали с больными. Наличие РНК вируса кори было подтверждено методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) с применением разработанного в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии ПЦР-набора «АмплиСенс-Корь». Образцы помещали в транспортную среду («АмплиСенс», Россия). Выделение РНК из клинического материала проводилось с использованием набора реагентов РИБО-преп («АмплиСенс», Россия).

Амплификацию проводили на приборе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad Laboratories, США) по программе: 50 °С — 15 мин, 95 °С — 15 мин, далее 45 циклов (95 °С — 10 с, 60 °С — 20 с) с детекцией флуоресцентного сигнала по каналам Fam (ВКО) и Hex (корь). Анализ полученных данных производился в соответствии с инструкциями производителя в программе Bio-Rad CFX Manager и инструкцией к набору («АмплиСенс-Корь», Россия).

Ключевые компоненты ПЦР наборов

Ключевыми компонентами всех методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), включая ПЦР являются: олигонуклеотидные праймеры, зонды с флуоресцентным красителем и ферменты [1]. Эти компоненты оказывают решающее значение на итоговые аналитические характеристика набора, такие как чувствительность, специфичность и стабильность работы. Кроме того, необходимыми компонентами современного набора, основанного на МАНК, являются контрольные образцы - генно-инженерные конструкции (плазмиды, фаги), которые содержат клонированный фрагмент гена искомого микроорганизма. Поскольку алгоритмы создания и состав любого набора на МАНК приблизительно одинаковые, отличия между типами наборов заключаются в принципе, на котором основано увеличение количества копий целевого фрагмента ДНК/РНК, приборной базе и ферментах. Далее речь будет идти о наиболее часто использующемся МАНК-ПЦР.

В приведенной ниже таблице 1 показаны ключевые компоненты современного высокочувствительного набора для ПЦР и описана степень значимости для каждого набора.

Таблица 1. Ключевые компоненты ПЦР-наборов

Компонент ПЦР-набора	**Вариабельность от набора к набору**
Олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентные зонды	Высокая уникальность для каждого патогена и для каждого геновариант патогена
Низкомолекулярные компоненты (буферные растворы, соли, dNTP)	Низкая
Фермент/ферменты	Средняя уникальность. На выбор фермента влияет тип патогена (ДНК или РНК содержащий), вид биоматериала, значимая минимальная концентрация патогена в образце.
Генно-инженерные контроли (плазмида, защищенные РНК/ДНК фаги)	Высокая, уникальные компоненты. Правильность выбора стратегии применения контроля (в наборе для ПЦР или в наборе для экстракции) зависит надежность набора при попадании ингибиторов в биоматериал.

Сделав предположение, что современный высокочувствительный набор для ПЦР содержит праймерную систему на целевой фрагмент гена инфекции, а также праймерную

систему на внутренний контроль эффективности экстракции и необходимые контрольные образцы, попробуем оценить минимальное время, которое требуется для разработки и тестирования такого набора

Схема разработки набора в кратчайшие сроки

1) Получение данных о геноме возбудителя и получение клинического материала, содержащего возбудителя на разных стадиях заболевания;
2) Подбор нескольких вариантов праймеров и зондов (4-6 часов);
3) Ускоренный синтез праймеров и зондов для ПЦР-набора и сборки контрольных образцов (36 часов);
4) Создание контролей для будущего набора: сборка гена из праймеров, клонирование, наработка плазмид (32 часа);
5) Тестирование работы олигонуклеотидов на контрольных образцах, подбор ферментов, условий ПЦР и принятие решения об окончательной «архитектуре тест-системы» (14 часов);
6) Подтверждение работы тест-системы на клиническом материале (8 часов);

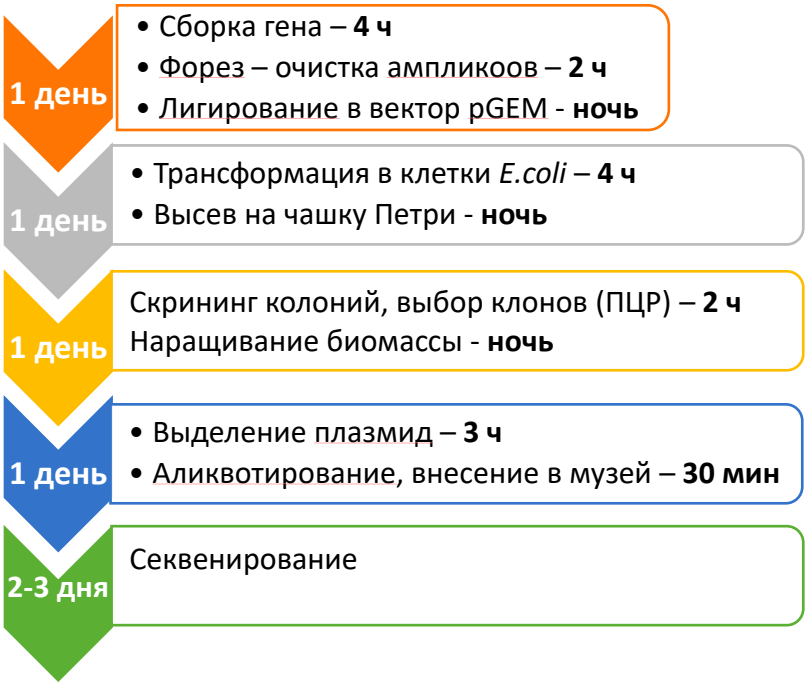
Таким образом, при ускоренной работе, за 96-100 часов можно разработать ПЦР набор, который будет иметь высокую чувствительность и специфичность в отношении новой инфекции.

Для реализации такой сверхбыстрой стратегии создания набора, при условии наличия данных о геноме возбудителя и клинических образцов, в организации должны быть следующие подразделения: разработки наборов, секвенирования (по Сенгеру и NGS), олигосинтеза, разработки и производства ферментов, генно-инженерная лаборатория (создание контролей, клонирование). Как правило, крупные научно-производственные организации имеют в наличии целый спектр разработанных ферментов для различных задач (полимеразы, обратные транскриптазы, ферменты для секвенирования, ферменты для улучшения качества экстракции нуклеиновых кислот). Современные качественные ферменты способны храниться без потери активности несколько лет в глицериновом растворе при низких температурах или в лиофилизированном виде при температуре +4ºС и могут быть использованы в любой момент для создания новых ПЦР-наборов. Олигонуклеотиды (праймеры и зонды) и контрольные образцы являются уникальными компонентами каждого набора для ПЦР, поэтому от скорости наработки этих компонентов будет зависеть время, затраченное на разработку набора.

В случае контрольных образцов существуют способы существенного увеличения скорости получения плазмид за счет применения протоколов ускоренного лигирования и быстрорастущих штаммов *E.coli.* На рисунке 1 представлены две схемы создания плазмидных контролей, классическая «А» и ускоренная «Б».

Рисунок 1. Классическая «А» и ускоренная «Б» схемы получения контрольных образцов на базе плазмиды в клетках *E.coli*

«А»



«Б»

Твердофазный синтез олигонуклеотидных праймеров и зондов является высокоавтоматизированным процессом и позволяет в сравнительно сжатые сроки получать олигонуклеотиды как в научных, так и в промышленных масштабах [2]. Современные оптимизированные протоколы синтеза олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующей ВЭЖХ очисткой, позволяют получить готовые олигонуклеотиды с качеством, подтвержденным на ВЭЖХ масс-спектрометре за 36 часов. В данном случае будут использованы зонды с флуорофорами по каналам FAM и HEX. Синтез зондов с флуорофорами по другим каналам более сложен и длителен и занимает от 60 часов.

Таким образом, можно отметить, что современные решения в области молекулярной диагностики, секвенирования, биотехнологии и тонкого органического синтеза позволяют создавать тест-системы на основе метода ПЦР а 4-6 дней.

Разработка в сжатые сроки набора реагентов для диагностики кори и его апробация

Согласно данным Роспотребнадзора, в России за девять месяцев 2023 года выявили в 288 раз больше заболевших вирусом кори, чем годом ранее. Эксперты объясняют стремительный рост последствиями пандемии, растущими антипрививочными настроениями, а также традициями некоторых этнических и религиозных групп [3-5]. В настоящий момент для выявления кори используются в основном ИФА-тесты [6]. Метод ПЦР, несмотря на простоту и гораздо более высокую чувствительность, распространения в Российской Федерации пока не получил. В рамках данной работы в максимально сжатые сроки был разработан набор для выявления вируса кори методом ПЦР («АмплиСенс-Корь»). Набор позволяет выявлять РНК всех описанных геновариантов вируса кори (*Measles morbillivirus*). Аналитическая чувствительность набора составляет 1000 ГЭ вируса в мл.

Набор был протестирован на образцах биоматериала, полученных от 123 пациентов детского отделения Республиканского центра инфекционных болезней им. Магомедова, г. Махачкала. Большинство детей, находящихся в отделении, и их родители на момент взятия мазков из носоглотки имели либо неспецифические симптомы ОРВИ (кашель, насморк, повышенная температура), что характерно также для продромального периода кори, либо были бессимптомными. У 25 пациентов, что составляет 20% ПЦР-тест на вирус кори был отрицательным, у 29 (24%) человек вирусная нагрузка была порядка 1 000 ГЭ/мл., 19 (15%) пациентов имели вирусную нагрузку около 10 000 ГЭ/мл. У оставшихся пациентов (41%) вирусная нагрузка превышала 10 000 ГЭ/мл. Через 3 и 6 дней мазки были взяты повторно. К этому моменту у многих пациентов появились специфические признаки кори – коревая экзантема и пятна Бельского — Филатова — Коплика.

Полученные результаты показывают, что на начальной стадии развития заболевания, когда у человека могут отсутствовать специфические симптомы кори, вирусная нагрузка уже

достаточно большая, 1 000 и более ГЭ/мл и человек уже способен распространять вирус кори. Именно поэтому введение в клиническую практику высокочувствительных ПЦР-тестов на корь оправдано.

ЛИТЕРАТУРА

1. Higuchi R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. Kinetic PCR Analysis: Real-time Monitoring of DNA Amplification Reactions. *Nat. Biotechnol.* 1993; 11: 1026−1030. doi 10.1038/nbt0993-1026
2. Colin B. Reese Oligo- and Poly-Nucleotides: 50 Years of Chemical Synthesis. *Org. Biomol. Chem*. 3 (2005); 21: 3851-3868.
3. Международный комитет по таксономии вирусов, род Morbillivirus https://ictv.global/report/chapter/paramyxoviridae/paramyxoviridae/morbillivirus
4. Эпидемиологическая справка ВОЗ: эпидемиологическая оценка отдельных заболеваний, предотвращаемых вакцинацией: № 1/2021 https://apps.who.int/iris/handle/10665/364869
5. Т.А. Мамаева, Г. Ю. Липская, М. А. Наумова, С. В. Шульга Особенности лабораторной диагностики кори у больных с разным прививочным анамнезом. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (5): 21-26.
6. Т.А. Мамаева, М. А. Наумова, Н.В. Железнова, Г. Ю. Липская Оценка коммерческих тест-систем ИФА разного формата для определения уровня специфических IgM и IgG в сыворотках больных корью. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (5): 43-48.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Замотаева Татьяна Львовна [Tatyana L. Zamotaeva]; адрес: Россия, 111123, Москва, улица Новогиреевская, д.3а [address: 3a Novogireevskaya street, 111123 Moscow, Russia]; телефон: 8(977)612-05-96; ORCID 0009-0003-9799-3749; eLibrary SPIN: 1986-8978; e-mail: sazonova@pcr.ms

Соавторы:

Лебедева Юлия Леонидовна, к.б.н. [Jullia L. Lebedeva, PhD]; адрес: Россия, 111123, Москва, улица Новогиреевская, д.3а [address: 3a Novogireevskaya street, 111123 Moscow, Russia]; ORCID 0000-0002-6814-417X; eLibrary SPIN: 7863-3625; e-mail: j_kuzmina@pcr.ms

Черкашин Евгений Александрович, к.х.н. [Evgeny Al. Cherkashin, PhD]; адрес: Россия, 111123, Москва, улица Новогиреевская, д.3а [address: 3a Novogireevskaya street, 111123 Moscow, Russia]; ORCID 0000-0002-3627-6047; eLibrary SPIN: 2432-5455; e-mail: e.cherkashin@pcr.ms

Акимкин Василий Геннадьевич д.м.н., профессор, академик РАН [Vasily G. Akimkin, MD, PhD, Professor]; адрес: Россия, 111123, Москва, улица Новогиреевская, д.3а [address: 3a Novogireevskaya street, 111123 Moscow, Russia]; ORCID 0000-0003-4228-9044; eLibrary SPIN: 4038-7455; e-mail: crie@pcr.ru

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Р.А. Каратеев, И.Г. Кириллова, Т.В. Попкова

ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой

Актуальность. Системная красная волчанка (СКВ) – аутоиммунное заболевание с высоким кардиоваскулярным риском. Частой причиной летальности у больных СКВ является сердечная недостаточность (СН), для диагностики которой в настоящее время применяется новый диагностический метод - speckle-tracking (ST) эхокардиография (ЭХО-КГ), который позволяет выявлять субклиническую миокардиальную дисфункцию.

Задачи: определить частоту ранних проявлений СН у больных СКВ по данным ЭХО-КГ; проанализировать связь ранних инструментальных признаков СН с клинико-иммунологическими показателями СКВ.

Материалы и методы: включено 80 пациентов с достоверной СКВ (SLICC/ACR 2012), средний возраст 34,3+12.1 лет, преобладали женщины 87%, длительность болезни 4,8+2,4 года, Me активности SLEDAI-2K 7,4[6,6; 8,5] балла. У всех пациентов проводилась ЭХО-КГ с тканевой допплерографией и оценкой глобальной продольной деформации левого желудочка (ГПД ЛЖ) методом ST.

Результаты. Снижение ГПД ЛЖ было отмечено у 71,8% пациентов с СКВ. В группе пациентов с СКВ и сниженной ГПД была выявлена прямая взаимосвязь между снижением ГПД и уровнем С-реактивного белка ($r = 0,913$) и скоростью оседания эритроцитов ($r = 0,277$), а также обратная с уровнем компонента комплементов С3 ($r = -0,404$) и С4 ($r = -0,644$), числом эритроцитов ($r = -0,258$) и уровнем гемоглобина ($r = -0,264$), скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) ($r = -0,296$) ($p<0,05$ во всех случаях). Снижение ГПД коррелировало с SLEDAI-2K ($r = 0,211$), титром антител к двуспиральной ДНК ($r = 0,307$) ($p<0,05$ во всех случаях).

Заключение

У пациентов с СКВ в большинстве случаев выявлялись низкие значения ГПД ЛЖ. ЭХО КГ по методике speckle-tracking позволяет выявляет раннюю дисфункцию миокарда, особенно в случаях с пациентами на ранних стадиях заболевания.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНДИКАТОРОВ ВМЕСТЕ С АЛГОРИТМАМИ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ АНАЛИЗА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИКАТОВ

Д.О. Каримов, Т.Г. Якупова

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа

В статье рассматривается применение молекулярно-генетических предикторов и методов машинного обучения для оценки токсичности химических веществ и разработки индивидуализированных подходов к лечению токсического гепатита. Основное внимание уделяется анализу изменений в экспрессии генов антиоксидантной системы при токсическом поражении печени различными веществами, такими как ацетаминофен, тетрахлорметан и этанол.

В исследовании острого токсического гепатита использовались беспородные белые крысы-самцы с массой тела от 180 до 200 граммов. Их распределили на четыре группы: контрольную, экспозиции тетрахлорметаном, воздействию парацетамола и подверженные этанолу. После 24 и 72 часов после администрирования токсина крысам вводили анестезию и проводили анализ уровней мРНК генов Chek1, Gclc, Gstm1, Gstp1, Gstt1, Nfe2l2, Nqo1, Ripk1 в печеночных гомогенатах.

Исследование экспрессии данных генов выявило, что профиль их активности меняется в зависимости от причины токсического гепатита. Была разработана и проверена модель машинного обучения с использованием метода градиентного бустинга, которая на основе данных об экспрессии генов способна предсказывать вероятный токсикант, вызвавший поражение печени. Модель показала высокую точность предсказаний (от 87% до 98%) и подтвердила свою эффективность через процедуру кросс-валидации.

Результаты исследования демонстрируют потенциал молекулярно-генетических методов и машинного обучения в уточнении этиологии токсического гепатита и разработке целенаправленных терапевтических стратегий, учитывающих индивидуальные особенности пациентов. Это открывает новые перспективы для персонализированной медицины в области лечения токсических поражений печени.

Ключевые слова: острый токсический гепатит, парацетамол, тетрахлорметан, этанол, экспрессия генов

Для корреспонденции: Каримов Денис Олегович, кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия, E-mail: karimovdo@gmail.com;

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Введение

Токсический гепатит (ТГ) является патологией, характеризующейся нарушением функций печени из-за повреждения гепатоцитов токсичными агентами, включая некорректное применение медикаментов, эксцессивное потребление алкоголя, профессиональное воздействие среди прочего [1, 2]. Несмотря на то, что этиология острой печеночной недостаточности достаточно подробно разработана [3], механизмы молекулярной и генетической реакции, варьирующие в зависимости от источника ТГ, остаются предметом для глубокого анализа.

Ацетаминофен (ААФ), известный также как парацетамол, относится к классу неопиоидных обезболивающих и жаропонижающих средств. Передозировка ААФ может привести к ТГ и, в критических случаях, к фатальному некрозу печени. ААФ подвергается метаболизму в печени через процедуры сульфатирования и глюкуронидации, при этом меньшая доля (5-10%) процесса метаболизма осуществляется через систему цитохрома P450. Система глутатионового окислительно-восстановительного цикла играет ключевую роль в детоксикации метаболитов путем их связывания с глутатионом [4, 5].

Экспозиция тетрахлорметану (ТХМ) также распознается как общая причина развития ТГ и часто применяется в качестве химической модели для исследования печеночных повреждений. Взаимодействие изоформ цитохрома P450 с ТХМ приводит к формированию свободных радикалов хлорметила (-CCl3), инициирующих липидное перекисное окисление мембран и повреждение субклеточных компонентов [6, 7].

Этиология алкогольного гепатита является комплексной и обусловлена множеством факторов, включая стеатоз, окислительный стресс, изменения проницаемости кишечника, синтез токсичных метаболитов и цитокинов, способствующих запуску воспалительного каскада. Этанол преобразуется в ацетальдегид при участии цитозольной алкогольдегидрогеназы. Далее ацетальдегид преобразуется в ацетат и восстановленный никотинамидадениндинуклеотид при участии митохондриальной и цитозольной альдегиддегидрогеназ [8].

Nrf2 относится к семейству ядерных транскрипционных факторов, играющих ключевую роль в обнаружении и реагировании на окислительный стресс. Одной из его значимых форм является Nfe2l2. В условиях окислительного стресса эти факторы регулируют экспрессию и координацию индукции антиоксидантных генов и ферментов детоксикации, что существенно способствует защите и выживаемости клеточных структур [9].

В ответ на окислительный стресс и токсическое воздействие организм активизирует производство генов, участвующих в нейтрализации токсичных соединений и активных форм кислорода. Сюда относятся НАД(Ф)-Н: хиноноксидоредуктаза 1 (Nqo1), глутатион-цистеинлигаза (Gclc) и ферменты глутатион-S-трансферазного суперсемейства (Gstt1, Gstm1, Gstp1). Накопление избыточных активных кислородных форм и повреждение ДНК инициируют активацию апоптотических процессов клеточной смерти. Ключевую роль в этом механизме играют цистеиновые протеазы, каспазы, которые активируют пути апоптоза и функционируют в качестве «инициаторов» или «эффекторов», в зависимости от их роли. В частности, каспаза 7 (Casp7) является одной из эффекторных каспаз, ответственных за расщепление целевых белков и инициирование апоптоза. В соматических клетках, Checkpoint киназа (Chek1) играет важную роль в передаче сигналов о повреждениях ДНК, вызванных активными формами кислорода. Chek1 регулирует клеточные циклы S и G2 и в случае аномалий в митозе инициирует процессы апоптоза [10].

Широкое распространение токсического гепатита (ТГ), его разнообразная этиология и последующая потребность в индивидуализированном лечении подчеркивают важность разработки молекулярно-генетических маркеров, способных идентифицировать механизмы ущерба гепатоцитам.

Целью данного исследования является анализ профиля экспрессии генов антиоксидантной системы в условиях экспериментального токсического поражения печени и разработка модели для определения этиологии токсического гепатита.

Материал и методы

Исследование проводилось на беспородных белых крысах-самцах, чья масса тела варьировалась от 170 до 190 граммов. Всего популяция животных была сегментирована на четыре группы по четырнадцать особей в каждой. Контекст содержания всех групп был унифицирован, включая однородные условия проживания и стандартизированный рацион.

В рамках эксперимента, группа №1 подвергалась подкожному введению 1 мл оливкового масла, служащего контрольным образцом. Группе №2 администрировали подкожно 50% масляный раствор ТХМ в дозировке 2 г/кг. Участникам третьей группы внутрижелудочно вводили ААФ, разведенный в крахмальном суспензе, в объеме 1 г/кг. В то же время, четвертая группа подвергалась внутрижелудочному приему этанола в количестве 5 г/кг.

Анализ состояния печени у испытуемых проводился через 24 и 72 часа после начала эксперимента, причем для каждого временного интервала отбирались по семь особей.

После проведения декапитации и вскрытия экспериментальных животных, образцы печеночной ткани незамедлительно подвергались криоконсервации в жидком азоте, а затем процессировались с использованием набора для извлечения РНК от компании "Евроген". Для оценки функционального состояния печени применялись разнообразные биохимические подходы, включая экстракцию тотальной РНК с применением тризола, последующую обратную транскрипцию и ПЦР-амплификацию в условиях реального времени на аппаратуре Rotor Gene от QIAGEN.

Анализ экспрессии генов Chek1, Gclc, Gstm1, Gstp1, Gstt1, Nfe2l2, Nqo1, Ripk1 в печеночных образцах осуществлялся методом ПЦР в реальном времени с использованием олигонуклеотидных праймеров от "Евроген", включающих интеркалирующий краситель SYBR Green, при этом в качестве референтного гена выступал ген GAPDH.

Статистический анализ результатов экспериментального исследования проводился с использованием t-теста Стьюдента. Для оценки нормальности распределения данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова. Различия считались статистически значимыми при значении p меньше 0,05.

Результаты

Аналитическое исследование экспрессии генов, принадлежащих к системам антиоксидантной защиты и детоксикации, выявило значительные изменения в условиях интоксикации экспериментальных животных ацетаминофеном (ААФ). Спустя 24 часа после начала воздействия наблюдалось увеличение уровня экспрессии гена Nqo1 до 2,04 (p=0,001) и гена Gstm1 до 1,04 (p=0,037), в то же время уровни экспрессии генов Nfe2l2 и Ripk1 уменьшились до значений -1,10 и -0,88 соответственно (p=0,004; p=0,004). Изменения в экспрессии генов Casp7, Chek1, Gclc, Gstp1, Gstt1 не достигли уровня статистической значимости.

Через 72 часа после экспозиции ААФ уровень экспрессии гена Gstm1 оставался без значительных изменений (0,78; p=0,037), тогда как уровень экспрессии гена Nqo1 вернулся к базовым показателям (-0,37; p=0,766). Продолжалось снижение экспрессии гена Nfe2l2, достигшее показателя -1,06 (p=0,008), в то время как уровень экспрессии гена Ripk1 нормализовался (0,29; p=0,304). Также было зафиксировано значительное уменьшение экспрессии гена Gclc, которое составило -2,09 (p=0,009).

При интоксикации тетрахлорметаном (ТХМ) наблюдалась дистинктивная динамика в профиле экспрессии генов. Через 24 часа после экспозиции, уровень экспрессии гена Nfe2l2 возрастал до 0,96 (p=0,09), гена Chek1 — до 1,30 (p=0,011), а экспрессия гена Gclc достигала пика в 2,26 (p=0,001). В то же время, в сравнении с влиянием парацетамола, уровень экспрессии гена Gstm1 сокращался до -1,48 (p=0,001).

По истечении 72 часов после интоксикации ТХМ происходило изменение в профиле экспрессии: экспрессия гена Gstm1 повышалась до 1,68 (p=0,001), тогда как экспрессия гена Nqo1 уменьшалась до -3,11 (p=0,009).

Под влиянием этанола, динамика экспрессии изученных генов отличалась от наблюдаемых при воздействии парацетамола и ТХМ. Через 24 часа после начала воздействия этанола, статистически значимые изменения не были обнаружены, однако прослеживалась тенденция к уменьшению уровня экспрессии гена Chek1 (p=0,073). Тем не менее, спустя 72 часа после экспозиции этанола наблюдалось статистически значимое снижение в экспрессии гена Chek1 до -2,13 (p=0,002), а также уменьшение экспрессии генов Gstp1 до -1,38 и Ripk1 до -1,36 (p=0,002 и p=0,020 соответственно).

Результаты данного исследования демонстрируют, что экспериментальное токсическое воздействие на печень разнообразными агентами приводит к дифференцированным изменениям в экспрессии генов антиоксидантной системы. Эти данные могут оказаться ценными для создания индивидуализированных подходов к лечению токсического гепатита, принимая во внимание этиологические особенности каждого конкретного случая.

Метод градиентного бустинга представляет собой ансамблевый мета-алгоритм в области машинного обучения, который интегрирует сотни или даже тысячи отдельных моделей в единую комплексную систему. Функционируя на принципах градиентного спуска, этот метод находит применение как в задачах классификации, так и в задачах регрессии, отличаясь высокой степенью точности предсказаний и способностью эффективно обрабатывать большие объемы данных (Рис. 1).

В рамках исследования был применен метод градиентного бустинга для создания прогностической модели, которая анализирует данные экспрессии генов для предсказания вероятного токсиканта, вызвавшего токсическое поражение печени у животного. Модель демонстрировала исключительно высокую эффективность, достигнув 97% площади под операционной характеристикой приемника (ROC-кривой) уже на этапе 1 706, что

свидетельствует о формировании 1 706 подмоделей в рамках итеративного процесса с целью улучшения общей точности и качества предсказаний.

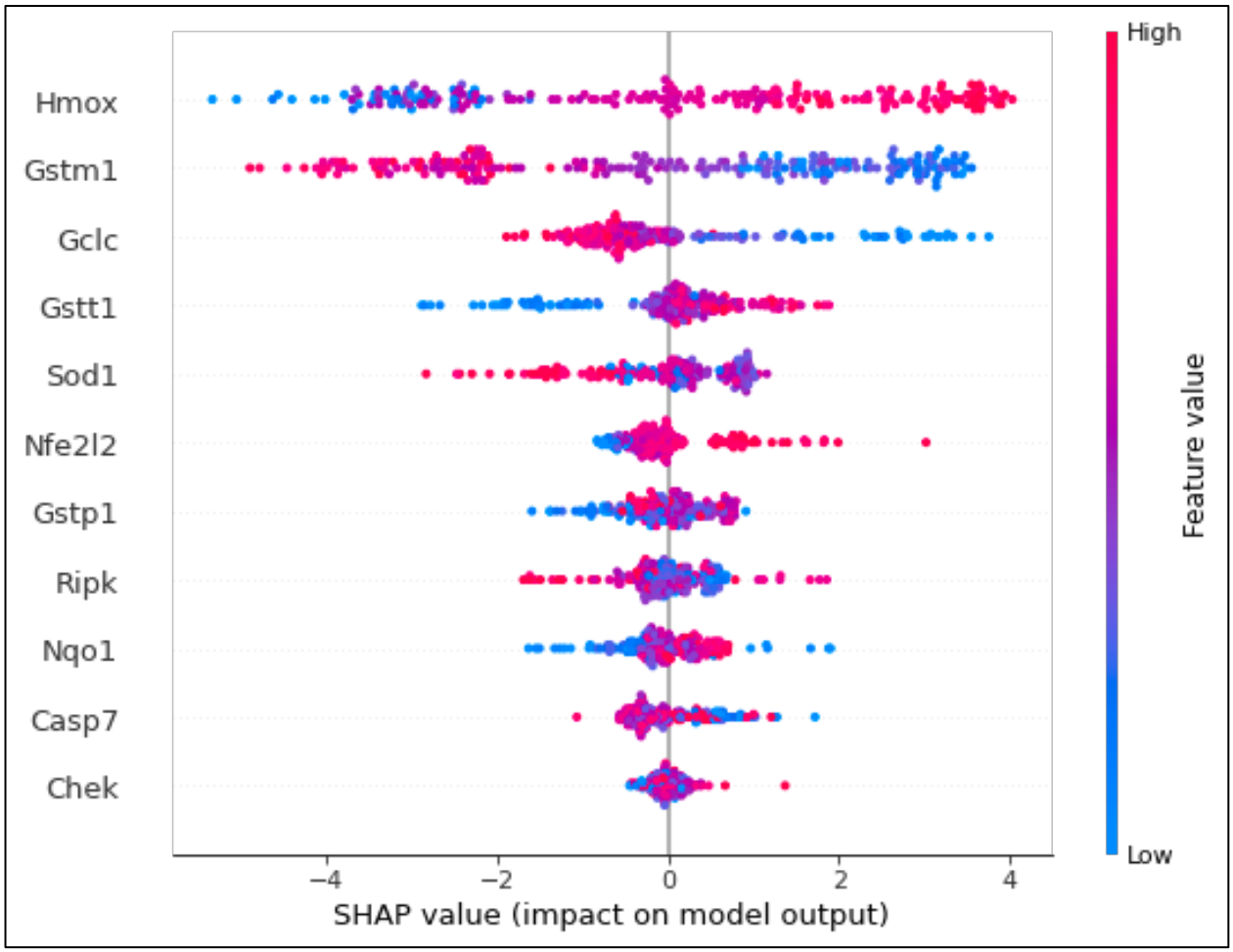


Рисунок 1. Вклад экспрессии каждого гена у отдельных животных в предсказания модели

Такой высокий показатель площади под ROC-кривой указывает на превосходную способность модели различать классы, то есть точно определять, каким токсикантом было затравлено животное. Для валидации модели и проверки ее способности к обобщению была использована методика кросс-валидации. Данные были разбиты на пять равных подгрупп, причем каждая подгруппа по очереди исполняла роль тестового набора, в то время как оставшиеся четыре служили обучающим набором.

Результаты, полученные от кросс-валидации, подтвердили высокую степень точности модели, показатели которой колебались между 98% и 93%. Это подтверждает, что модель хорошо обобщает данные и не подвержена переобучению, обладая стабильной способностью к предсказанию класса токсиканта на основе генетической экспрессии, несмотря на вариации в тестовых наборах данных. (рис.2).

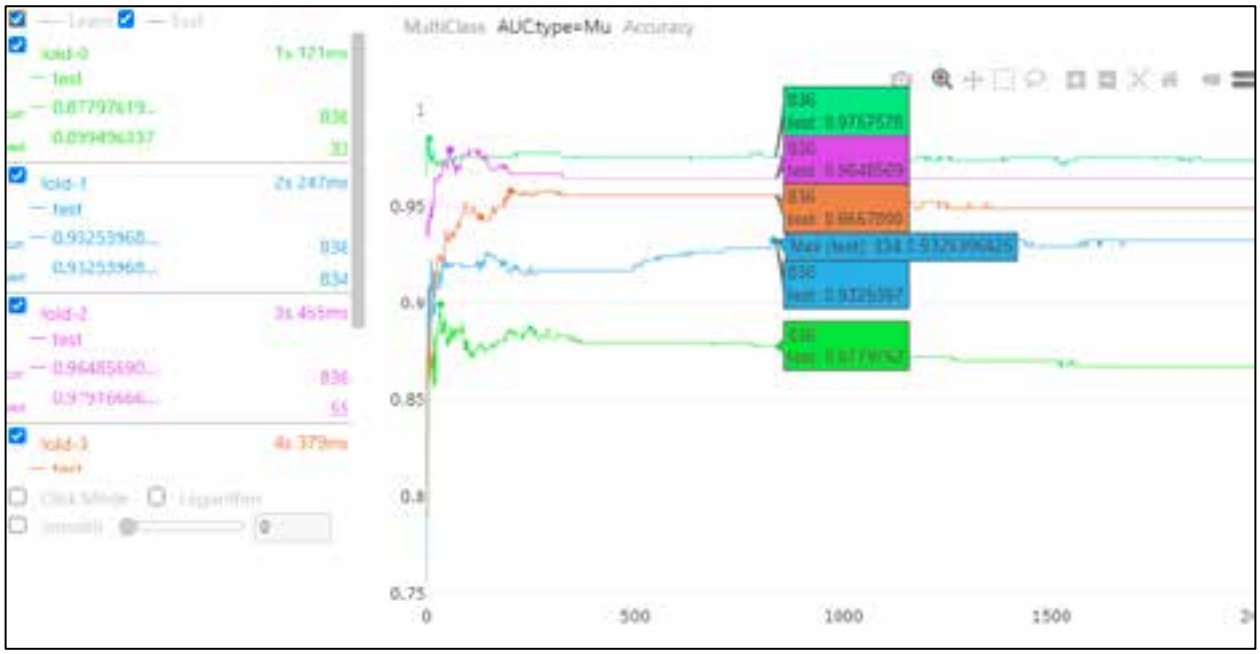


Рисунок 2. Оценка достоверности модели с помощью кросс-валидации

Обсуждение

Окислительный стресс представляет собой состояние дисбаланса между производством активных форм кислорода (АФК) и способностью антиоксидантной системы организма нейтрализовать эти реактивные соединения или восстанавливать возникшие в результате их действия повреждения. Это состояние является критическим фактором в развитии многих патологий, включая токсический гепатит, поскольку избыточные активные формы кислорода могут привести к обширному повреждению клеточных структур, включая липиды, белки и ДНК.

Для понимания этиологии токсического гепатита была разработана специализированная модель на основе анализа экспрессии генов, связанных с механизмами антиоксидантной защиты. Эта модель демонстрирует высокую предсказательную способность, с точностью от 87% до 98%, что указывает на её значительный потенциал в идентификации основных причин токсического повреждения печени. Такая модель может служить важным инструментом для разработки персонализированных подходов к лечению, позволяя врачам определять наиболее вероятные причины заболевания на основе уникального генетического профиля пациента и настроить соответствующую терапию, нацеленную на конкретные механизмы повреждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khoury T, Rmeileh AA, Yosha L, Benson AA, Daher S, Mizrahi M. Drug Induced Liver Injury: Review with a Focus on Genetic Factors, Tissue Diagnosis, and Treatment Options. J Clin Transl Hepatol. 2015;3(2):99–108.

2. Oh IS, Park SH. Immune-mediated Liver Injury in Hepatitis B Virus Infection. Immune Netw. 2015;15(4):191–198.

3. Ren F, Zhang L, Zhang X, Shi H, Wen T, Bai L, Zheng S, Chen Y, Chen D, Li L, Duan Z. Inhibition of glycogen synthase kinase 3β promotes autophagy to protect mice from acute liver failure mediated by peroxisome proliferator-activated receptor α Cell Death Dis. 2016;7:e2151.

4. Nelson S.D. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. Semin. Liver Dis. 1990;10:267–278. doi: 10.1055/s-2008-1040482.

5. Bessems J.G., Vermeulen N.P. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: Molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. Crit. Rev. Toxicol. 2001;31:55–138. doi: 10.1080/20014091111677.

6. Allman M, Gaskin L, Rivera CA. CCl4-induced hepatic injury in mice fed a Western diet is associated with blunted healing. J Gastroenterol Hepatol. 2010;25:635–643.

7. Ma X, Xu L, Wang S, Chen H, Xu J, Li X, Ning G. Loss of steroid receptor co-activator-3 attenuates carbon tetrachloride-induced murine hepatic injury and fibrosis. Lab Invest. 2009;89:903–914.

8. Berg JM, Tymoczko JL. In: Freeman W. Biochemistry. New York; 2002. Section 30.5, Ethanol Alters Energy Metabolism in the Liver.

9. Itoh K, Igarashi K, Hayashi N, Nishizawa M, and Yamamoto M. Cloning and characterization of a novel erythroid cell-derived CNC family transcription factor heterodimerizing with the small Maf family proteins. Mol Cell Biol 15: 4184–4193, 1995

10. Liu Q., Guntuku S., Cui X.S., Matsuoka S., Cortez D., Tamai K., Luo G., Carattini-Rivera S., DeMayo F., Bradley A. et al. (2000) Chk1 is an essential kinase that is regulated by Atr and required for the G(2)/M DNA damage checkpoint. Genes. Dev., 14, 1448–1459.

АДДИТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ЭНДОНАЗАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ

А.И. Крюков [1,2], П.Л. Чумаков [1], А.С. Товмасян [1], Н.В. Шведов [1], А.Е. Кишиневский [1], В.В. Мосин [1]

[1]ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» Департамента Здравоохранения города Москвы (директор – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. А. И. Крюков)

[2]Кафедра оториноларингологии им. акад. Б.С. Преображенского лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ (зав. кафедрой – член корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф., д.м.н. А.И. Крюков) Россия, Москва, 117997

Резюме

Послеоперационные осложнения нередко встречаются в практике оториноларинголога. Для профилактики послеоперационных осложнений хорошо себя зарекомендовало использование внутриносовых устройств. В этой статье представлен наш опыт применения аддитивных технологий (АТ) в эндоназальной хирургии. Нами модернизировано и разработано несколько анатомических вариантов сплинтов для перегородки носа (ПН) и средней носовой раковины (СНР) с использованием 3D-моделирования на принтере «Formlabs 3BL». Разработка формы и размеров сплинтов проведена на основе анализа данных КТ носа и околоносовых пазух (ОНП) 100 пациентов.

Установка сплинтов способствует профилактике образования синехий полости носа, гематомы и перфорации ПН. Однако для определения клинической эффективности этих оригинальных изделий медицинского назначения требуется проведение дальнейшего исследования.

Введение

Заболевания полости носа и ОНП являются одними из самых частых не только в оториноларингологии, но и в общей медицинской практике [1]. Эффективным методом лечения хронической эндоназальной патологии является функциональная эндоскопическая синус-хирургия (ФЭСХ).

Однако несмотря на принципы малоинвазивности и широкое применение этих операций, в 6-16% случаев требуется повторное хирургическое вмешательство [2]. Необходимость повторных операций возникает чаще всего по причине развития послеоперационных осложнений, связанных, как правило, с анатомическими особенностями структур полости носа,

среди которых ведущее значение имеют образование синехий, латерализация СНР, а также - рубцовая обструкция расширенных в ходе операции соустий ОНП.

К факторам, предрасполагающим к возникновению синехий полости носа в послеоперационном периоде считаются «узость» носовых ходов, повреждение слизистой оболочки, близкое расположение раневых поверхностей; недостаточно широкое открытие соустий ОНП, а также - склонность травмированной слизистой оболочки полости носа к формированию рубцов [3].

В данной статье будут расмотрены несколько модификаций эндоназальных устройств для снижения частоты послеоперационных осложнений в эндоназльной хирургии [4-8]. Устройства (стенты), устанавливаемые в полости носа, выполняют несколько важных функций: разобщение раневых поверхностей, сохранение лейкоцитарно-некротического субстрата в послеоперационной ране, являющегося морфологической основой адекватной регенерации; предотвращение латерализации СНР, сокращение времени и частоты послеоперационных приемов. Сложность подбора универсальной формы стента заключается в том, что требуется обеспечить одновременно достаточную площадь поверхности устройства и удобство его применения. Существующие эндоназальные стенты являются унифицированными и могут не соответствовать параметрам полости носа конкретного больного. Ранее нами было проведено исследование вариабельности анатомических параметров полости носа, где было доказано, что в разных популяциях (мужской, женской, детской) параметры полости носа разнятся [9]. Максимальная эффективность использования сплинтов при септопластике достигается за счёт обеспечения максимальной площади покрытия функционально значимых частей ПН. Одновременно с этим, при установке размеры сплинта ограничиваются анатомически «узкими» местами полости носа. Учитывая высокую распространённость эндоназальных операций, в том числе в детской популяции, необходимо, чтобы применение внутриносовых шин было максимально эффективным, безопасным и комфортным для всех групп пациентов. Внедрение этих изделий в практику требует больших затрат для разработки, изготовления.

Цель нашего исследования состоит в применении аддитивных технологий для прототипирования и изготовления индивидуальных эндоназальных стентов.

Материалы и методы

Для разработки прототипа 3D-модели первоначально необходимо оценить изображения формата DICOM в специализированном программном обеспечении «RadiAnt DICOM Viewer», Version 2022.1. Мы измеряли линейные (в мм) величины с помощью встроенных инструментов и сохраняли данные в виде таблиц Microsoft Excel для последующей обработки данных. Мультиспиральную КТ носа и ОНП выполняли на томографе General Electric «Revolution HD», США) с шагом и толщиной томографического среза от 0,2 до 0,5 мм.

Для рассматриваемых значений мы рассчитывали средние показатели и стандартные отклонения для всей группы пациентов и отдельно - для подгрупп мужчин, женщин и детей.

Второй этап включает в себя формирование виртуальной модели сплинта в программе «DesignSpark Mechanical ver. 5,0 с учетом полученных данных (Рис. 1).

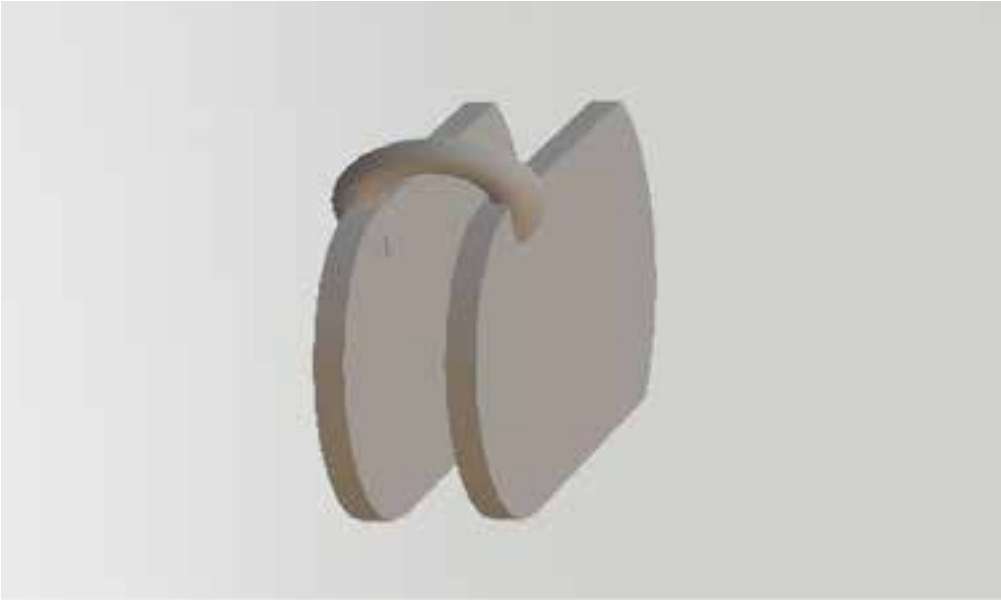


Рис. 1. Трехмерная модель прототипа сплинта для СНР

Далее при помощи 3D-принтера «Formlabs 3BL» из биосовместимого эластичного материала «BioMed Elastic Resin» с твердостью по Шору 50А мы производим печать разработанной модели. Заключительный этап состоит из «промывки» изделия в изопропиловом спирте 90%, воздействие ультрафиолетовым излучением при температуре 60С по Цельсию и удаление вспомогательных перемычек с помощью специальных инструментов.

Нами были определены следующие критерии включения в исследование пациентов: возраст - старше 10 лет; диагноз - искривление ПН, хронический двусторонний полисинусит с полипами или без; отсутствие эффекта от медикаментозной терапии (местные и системные кортикостероидные препараты, ирригация солевыми растворами, системная антибактериальная терапия).

Критерии исключения: хирургическое лечение носа и ОНП в анамнезе; гипертрофия СНР; беременность; наличие подтвержденных системных воспалительных и онкологических заболеваний, тяжелая сопутствующая соматическая патология; отказ пациента от участия в исследовании.

Результаты

На основании проведенного анализа анатомии полости носа были созданы 3D-модели прототипов сплинтов для ПН и СНР.

Разработан и изготовлен сплинт для фиксации ПН в 3-х вариациях для различных групп населения. Наибольшего размера - мужской популяции (RU 218975 U1), среднего - женской (RU 218946 U1) и малого - детской (RU 218976 U1). Первый вариант сплинта выполнен в виде пластины из эластичного материала, имеющего каплевидную форму, приближенную к анатомической форме ПН. Использование силиконовой шины позволяет повысить эффективность хирургического лечения искривления ПН, провести профилактику осложнений, таких как гематома ПН, перфорация ПН, развитие послеоперационных синехий полости носа, а также обеспечить наиболее подходящую установку сплинта для отдельно взятой популяции пациентов.

Второй вариант сплинта для ПН – это силиконовая шина с микроперфорациями (RU 208921 U1, Рис. 2). Она также представлена в виде пластины из эластичного материала, имеющей каплевидную форму, однако имеет специальные отверстия для обеспечения удобной фиксации шины к ПН. Преимуществом этой шины является наиболее доступное распределение лекарственных препаратов на слизистой оболочке ПН, что повышает их биодоступность. Использование этой силиконовой шины позволяет не только повысить эффективность септопластики, но и наряду с этим активно применяется для лечения субатрофического ринита.

Рис. 2. Прототип сплинта для перегородки носа с перфорациями

Разработанный сплинт для СНР состоит из двух пластин в форме неправильного многоугольника со сглаженными углами, соединенными перемычкой. Пластины расположены параллельно друг другу. При установке на СНР сплинт должен перекрывать ее нижний край и несколько выступать книзу. Длина пластин подобрана таким образом, чтобы они покрывали поверхность СНР и несколько выступали за передний край СНР, но при этом не упирались в базальную пластинку последней. Симметричный сплинт такого размера можно использовать для правой и левой половин носа.

На основании разработанной модели с использованием технологии 3D-печати был получен прототип сплинта для СНР, который может быть использован в дальнейшем для клинического исследования (Рис. 3).

Рис. 3. Прототип сплинта для СНР, изготовленный на 3D-принтере. Сплинт закреплён на подпорках, необходимых для процесса печати (в дальнейшем удаляются).

Заключение

По итогам работы получены количественные показатели ключевых анатомических структур полости носа, которые могут оказывать влияние на эффективность использования внутриносовых стентов при эндоназальных хирургических вмешательствах. Получены результаты для отдельных субпопуляций пациентов – взрослые мужчины, взрослые женщины и дети различных возрастных категорий. Эти результаты были использованы для разработки новых более совершенных внутриносовых стентов, применение которых позволит повысить эффективность лечения пациентов с хирургической патологией полости носа и ОНП.

В ходе исследования были изучены анатомические характеристики СНР у взрослых мужчин и женщин, которые могут быть использованы для разработки различных внутриносовых устройств, в том числе - сплинтов для среднего носового хода и СНР. На основании полученных данных разработана анатомичная форма внутриносового сплинта для СНР, состоящего из двух параллельных пластин, соединенных перемычкой. Применение аддитивных технологий позволило быстро изготовить прототип изделия, пригодный для использования.

На следующем этапе исследования планируется клиническое исследование разработанных прототипов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г.З. Пискунов и соавт., 2003; М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк, 1998; В.Т. Пальчун и соавт., 2002
2. Kennedy D,Becker D. Endoscopic surgery of the paranasal sinuses. Rossijskaja rinologija. 1998;(1):4-14. (In Russ.)
3. Levine CG, Casiano RR. Revision Functional Endoscopic Sinus Surgery. Otolaryngol Clin North Am. 2017 Feb;50(1):143-164. doi: 10.1016/j.otc.2016.08.012. PMID: 27888911

4. Kennedy JL, Hubbard MA, Huyett P, Patrie JT, Borish L, Payne SC. Sino-nasal outcome test (SNOT-22): a predictor of postsurgical improvement in patients with chronic sinusitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2013 Oct;111(4):246-251.e2. doi: 10.1016/j.anai.2013.06.033. Epub 2013 Jul 30. PMID: 24054358; PMCID: PMC3977600.
5. Huang Z, Hwang P, Sun Y, Zhou B. Steroid-eluting sinus stents for improving symptoms in chronic rhinosinusitis patients undergoing functional endoscopic sinus surgery. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Jun 10;(6):CD010436. doi: 10.1002/14651858.CD010436.pub2. PMID: 26068957.
6. Chaaban MR, Rana N, Baillargeon J, Baillargeon G, Resto V, Kuo YF. Outcomes and Complications of Balloon and Conventional Functional Endoscopic Sinus Surgery. Am J Rhinol Allergy. 2018 Sep;32(5):388-396. doi: 10.1177/1945892418782248. Epub 2018 Jun 27. PMID: 29947260.
7. Stein NR, Jafari A, DeConde AS. Revision rates and time to revision following endoscopic sinus surgery: A large database analysis. Laryngoscope. 2018 Jan;128(1):31-36. doi: 10.1002/lary.26741. Epub 2017 Jul 8. PMID: 28688189; PMCID: PMC6743487.
8. Musy PY, Kountakis SE. Anatomic findings in patients undergoing revision endoscopic sinus surgery. Am J Otolaryngol. 2004 Nov-Dec;25(6):418-22. doi: 10.1016/j.amjoto.2004.06.002. PMID: 15547811.
9. Товмасян А.С., Чумаков П.Л., Крюков А.И., Кишиневский А.Е., Яновский В.В., Шведов Н.В., Рамазанов С.Р. Вариабельность анатомических размеров полости носа, влияющих на оптимизацию формы внутриносовых сплинтов. Российская ринология. 2023;31(2):98-104. https://doi.org/10.17116/rosrino20233102198

Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства г. Москвы (проект гранта №2312-27/22 Внутриносовые изделия медицинского назначения для оптимизации лечения пациентов с патологией носа).

ИНТЕРОЦЕПЦИЯ СЕРДЦА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

А.С. Лимонова[1], И.А. Миненко[1], К.Н. Германова[1], А.И. Ершова[1]

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения, Москва, Россия

Аннотация

***Обоснование*:** бессимптомное течение заболеваний препятствуют их своевременной диагностике. Имеются данные об изменении интероцепции при ряде клинических состояний, а также о роли интероцепции в восприятии симптомов заболевания. Изучение интероцепции у пациентов кардиологического профиля с помощью сердечных вызванных потенциалов и их связь с выраженностью симптомов ранее не была исследована

***Цель исследования*:** определение интероцепции с помощью (1) трех модификаций теста по оценки сокращений сердца и (2) СВП у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) при наличии и отсутствии симптомов при повышении артериального давления.

***Методы*:** В исследовании были включены пациенты в возрасте 25-50 лет с диагнозом АГ, установленным на основании действующих клинических рекомендаций. Всем пациентам проводили регистрацию электрокардиографии (ЭКГ) и электроэнцефалографии (ЭЭГ) в состоянии покоя, а также во время выполнения модификации теста по оценке сердечных сокращений. Проанализированы сердечные вызванные потенциалы во время каждого из трех тестов отдельно для пациентов с наличием и отсутствием клинических симптомов при повышении АД.

***Результаты*:** в исследование включено 23 пациента с диагнозом АГ. При сравнении средних амплитуд СВП во время выполнения трех тестов выявлено, что для теста с нажатием у пациентов с наличием симптомов при повышении АД амплитуды СВП выше ($p = 0,010$), по сравнению с пациентами без симптомов.

***Заключение*:** Полученные пилотные данные о различии амплитуды СВП между пациентами с АГ в зависимости от наличия симптомов могут быть основой для будущих исследований на больших выборках пациентов, предъявляющих различные кардиологические симптомы.

Ключевые слова: интероцепция, сердечные вызванные потенциалы, артериальная гипертензия

CARDIAC INTEROCEPTION IN PATIENT WITH SYMPTOMATIC AND ASYMPTOMATIC HYPERTENSION

A.S. Limonova [1], I.A. Minenko [1], K.N. Germanova [1], A.I. Ershova [1]

[1]National Medical Research Center For Therapy And Preventive Medicine, Moscow, Russia

Abstract

Background: asymptomatic course of diseases hinders their timely diagnosis. There is evidence for interoceptive impairments in a number of clinical conditions, as well as the role of interoception in the perception of disease symptoms. The study of interoception in cardiac patients using heart evoked potentials and their relationship to symptom severity has not been previously investigated..

Aims: assessed interoception through (1) three modifications of heartbeat perception tasks (2 heartbeat-evoked potentials in patients with hypertension with the presence and absence of symptoms during blood pressure elevation.

Materials and methods: patients aged 25-50 years with a diagnosis of hypertension were included in this study. All patients underwent electrocardiography (ECG) and electroencephalography (EEG) recordings at rest and during heartbeat perceptioen tasks. Heartbeat-evoked potentials during each of the three tests were analyzed separately for patients with and without clinical symptoms during blood pressure elevation.

Results: 23 patients diagnosed with hypertension were included in the study. Difference in the mean amplitude of heartbeat-evoked potentials was reveled for one of the tests: patients with symptoms during BP elevation had higher mean amplitudes ($p = 0.010$) compared to patients without symptoms.

Conclusions: These pilot data may be the basis for future studies on larger samples of patients with different cardiac symptoms.

Keywords: interoception, evoked potentials, hypertension

Введение

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения артериальной гипертонией (АГ) в мире страдают 1,28 млрд человек [1]. Отсутствие своевременной диагностики и лечения АГ может привести к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, а также поражению почек, глаз и когнитивных нарушений [2]. Особую сложность представляют случаи заболевания, которые не проявляются какой-либо симптоматикой, что, несомненно, препятствует раннему установлению диагноза. Изучение этиологии симптомов и их интенсивности является актуальным с целью дальнейшей трансляции в клиническую практику, поскольку понимание этиологии жалоб пациентов позволит улучшить эффективность диагностических и лечебных мероприятий [3]. В связи с этим особый интерес приобретает изучение роли интероцепции в формировании восприятия симптомов заболевания [4]. Интероцепция включает процессы восприятия, интеграции и регуляции сигналов, связанных с внутренним состоянием организма [5]. Для изучения интероцепции в исследованиях чаще всего оценивают именно интероцепцию сердца.

Выделяют различные домены интероцепции, одним из них является точность интероцептивного восприятия. Для её определения проводят различные модификации теста по оценке сердечных сокращений: подсчет испытуемым числа сокращений сердца в заданных интервалах [6], нажатие на кнопку в момент ощущения каждого сокращения сердца [7], определение одновременности подаваемого внешнего сигнала (звукового/светового) сокращениям сердца [6]. Вышеперечисленные подходы имеют ряд ограничений, обусловленных тем, что при выполнении данных тестов испытуемые могут ориентироваться не на реальные интероцептивные ощущения, а на предполагаемую/известную частоту собственных сердечных сокращений. В связи с этим в последнее время применяют нейрофизиологический параметр для оценки интероцепции, сердечные вызванные потенциалы (СВП), для определения которых проводится параллельная регистрация электрокардиографии (ЭКГ) и электроэнцефалографии (ЭЭГ) [8]. К настоящему времени имеются данные об изменении интероцепции при ряде заболеваний, в том числе соматоформных расстройствах [4], однако исследований по изучению интероцепции и симптомов у пациентов кардиологического профиля ранее не проводилось.

Целью данного исследования являлось определение интероцепции с помощью (1) трех модификаций теста по оценки сокращений сердца и (2) СВП у пациентов с АГ при наличии и отсутствии симптомов при повышении артериального давления.

Материалы и методы

В исследовании были включены пациенты в возрасте 25-50 лет с диагнозом АГ, установленным на основании действующих клинических рекомендаций. Критериями исключения являлись: наличие иной сердечно-сосудистой патологии, а также любых эндокринных, неврологических, психических и любых острых заболеваний, индекс массы тела (ИМТ) более 35 кг/м^2), прием препаратов, проникающих через гемато-энцефалический барьер, наличие депрессии (более 7 баллов по госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS), беременность.

Регистрация ЭКГ и ЭЭГ на протяжении всего исследования использован усилитель NVX-52 (МКС), частота дискретизации 500 Гц. Запись ЭКГ проводилась с использованием трех пар биполярных отведений (с расположением электродов на предплечьях, боковых поверхностях шеи и 2 см ниже ключиц), запись ЭЭГ - с использованием 36 активных Ag/AgCl электродов, размещенных на эластичных ЭЭГ-шапочках по международной системе 10-20. Контакт с кожей головы обеспечивался нанесением электролитного гипоаллергенного геля на металлическую часть электрода. В качестве онлайн-референтов выбраны каналы T3, T4. Сопротивление по всем каналам во время записи не превышало 25 kΩ. Для регистрации электромиографии использовали 2 электрода на ведущую руку, для окулографии – дополнительная пара электродов возле внешних углов глаз.

После 5 минут записи в состоянии покоя участники выполняли тесты по оценке сердечной деятельности (последовательность тестов определялась случайным образом для каждого испытуемого). Во время их выполнения испытуемым давалась инструкция по концентрации внимания именно на внутренних ощущениях, а не выполнению тестов на основании пальпации пульса/иных способах её оценки, не связанных с интероцепцией (например, подсчет видимой пульсации поверхностно расположенных сосудов). Методология и формулы для тестов с подсчетом числа сердечных сокращений, нажатием на кнопку в момент ощущаемого сокращения сердца и определением синхронности предъявляемого звукового сигнала ощущаемым сокращениям сердца соответствовала предыдущим исследованиям [7, 9] и детально описана в нашем предыдущем исследовании [10].

Для программной реализации протокола исследования и дальнейшего анализа электрофизиологических и поведенческих (результаты трех тестов) данных использован язык программирования Python 3 и пакеты psychopy, tkinter mne, numpy, pandas, Pylsl, pickle. Для фильтрация электрофизиологических данных применен частотный диапазон 0,5 - 20 Гц. Для удаления артефактов , связанных с морганием, движением глаз и сердечными сокращениями мы

использовали анализ независимых компонент (ICA). Для анализа СВП выполнено построение ЭЭГ-эпох с латентностью (-200) - 600 мсек. Далее мы усредняли полученные эпохи (для состояния покоя и по отдельности для трех тестов) для проведения межгруппового статистического анализа с применением пространственно-временного кластерного пермутационного теста , в котором порогом значимости для кластеров было значение p-value менее 0.05.

Результаты и обсуждение

В исследование включено 23 пациента, из них 14 с наличием симптомов при повышении АД $\geq$ 140/90 мм рт.ст. Характеристика участников представлена в таблице 1.

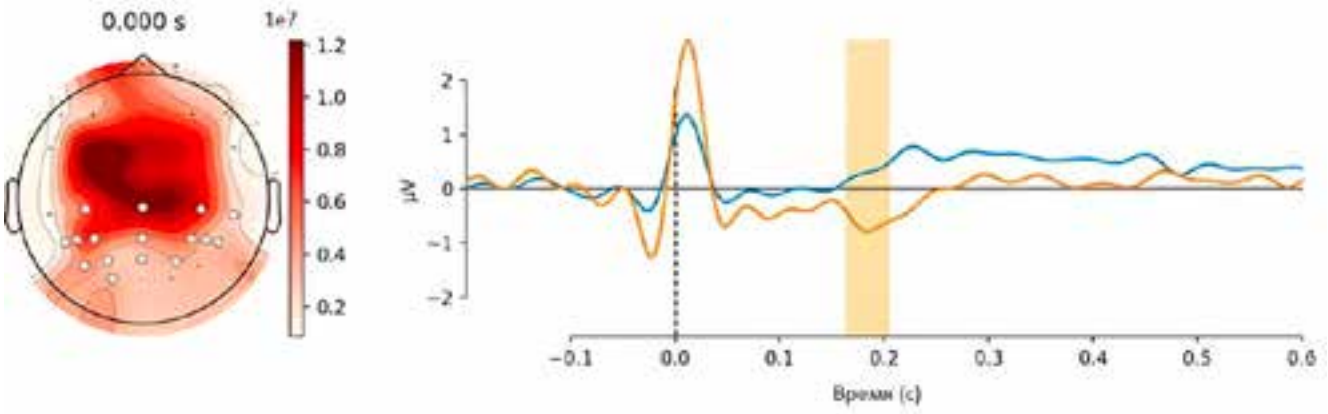
Таблица 1. Характеристика участников исследования

Показатель	Пациенты с симптомным повышением АД	Пациенты с бессимптомным повышением АД	Достоверность различий, p (U-тест Манна-Уитни)
Всего человек (мужчин, женщин)	14 (9,5)	9 (9,0)	-
Медиана возраста, [Q1; Q3]]	43,8 [38,7, 46,1]	39,5 [35,9, 44,5]	p>0,05
Медиана ИМТ, [Q1; Q3] кг/м^2	27,9 [25,2, 29,6]	30,7 [27,9, 32,9]	p>0,05

Для всех испытуемых проведён попарный корреляционный анализ между точностями выполнения для трех тестов, значимая корреляция была выявлена только между тестом с подсчетом числа сердечных сокращений и тестом с нажатием кнопки ($r = 0,54$, $p = 6,64\times10\text{-}3$), что соответствуют литературным данным [11]. Вычислена средняя максимальная амплитуда сердечных вызванных потенциалов (СВП) внутри групп каналов согласно следующему делению: левая фронтальная “LF” ('Fp1', 'F3', 'FC3', 'C3', 'F7', 'FT7'), центральная фронтальная “CF” ('Fpz', 'Fz', 'FCz', 'Cz'), правая фронтальная “RF” ('Fp2', 'F4', 'FC4', 'C4', 'F8', 'FT8'), левая париетальная “LP” ('TP7', 'CP3', 'P3', 'T5', 'P5', 'PO7'), правая париетальная “RP” ('TP8', 'CP4', 'P4', 'T6', 'P6', 'PO8') группы. Выявлены положительная корреляция для точности теста с подсчетом (группа LP: $r = 0,54$; $p < 0,01$) и отрицательная корреляция для точности теста со звуковым сигналом (группа LP: $r = -0,42$; $p = 0,05$). Полученные данные о связи СВП и точности выполнения тестов по оценке сердечного ритма соответствуют предыдущим исследованиям [8].

При сравнении средних амплитуд СВП во время выполнения трех тестов выявлено, что для теста с нажатием у пациентов с наличием симптомов при повышении АД амплитуды СВП выше (p = 0,01), по сравнению с пациентами без симптомов (рисунок 1).

Рисунок 1. Визуализация значимого кластера (из 16 электродов) различий в амплитуде СВП для теста с нажатием у пациентов с АГ наличием симптомов при повышении АД (синий цвет) и без (оранжевый цвет)



Заключение

Полученные пилотные данные о различии амплитуды СВП между пациентами с АГ в зависимости от наличия симптомов могут быть основой для будущих исследований на больших выборках пациентов, предъявляющих различные кардиологические симптомы. Понимание этиологии кардиальных симптомов позволит улучшить диагностику и маршрутизацию пациентов с отсутствием верифицированной органической патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Hypertension – URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension (дата обращения 2024-01-28)

2. Williams B. et al. 2018 practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European society of cardiology and the European society of hypertension ESC/ESH task force for the management of arterial hypertension // Journal of Hypertension – 2018. – Vol. 36, № 12. P. 2284–2309.

3. Martin A., Van Den Bergh O. Medically Unexplained Symptoms and Bodily Distress: Four Challenges to Improve Understanding and Evidence-Based Care // Zeitschrift fur Psychologie / Journal of Psychology. Hogrefe Verlag GmbH & Co. KG – 2020. – Vol. 228, № 2. P. 65–67.

4. Locatelli G. et al. What is the role of interoception in the symptom experience of people with a chronic condition? A systematic review // Neurosci. Biobehav. Rev. Neurosci Biobehav Rev – 2023. – Vol. 148.

5. Chen W.G. et al. The Emerging Science of Interoception: Sensing, Integrating, Interpreting, and Regulating Signals within the Self // Trends Neurosci. Elsevier Ltd. – 2021. – Vol. 44, № 1. P. 3–16.

6. Garfinkel S.N. et al. Knowing your own heart: Distinguishing interoceptive accuracy from interoceptive awareness // Biol. Psychol. Elsevier. – 2015. – Vol. 104, P. 65–74.

7. Yoris A. et al. Multilevel convergence of interoceptive impairments in hypertension: New evidence of disrupted body–brain interactions // Hum. Brain Mapp. John Wiley and Sons Inc. – 2018. – Vol. 39, № 4. P. 1563–1581.

8. Coll M.P. et al. Systematic review and meta-analysis of the relationship between the heartbeat-evoked potential and interoception // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. Elsevier Ltd. – 2021. – Vol. 122. P. 190–200.

9. Garfinkel S.N. et al. Knowing your own heart: Distinguishing interoceptive accuracy from interoceptive awareness // Biol. Psychol. Elsevier B.V. – 2015. – Vol. 104. P. 65–74.

10. Миненко И.А. et al. Сравнение методов субъективной оценки интероцепции сердца. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2023. – Т. 22, № 10. С. 3797.

11. Körmendi J., Ferentzi E., Köteles F. A heartbeat away from a valid tracking task. An empirical comparison of the mental and the motor tracking task // Biol. Psychol. Biol Psychol. – 2022. – Vol. 171.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ

Я.Ю. Никиткина, З.О. Заоева, Е.Н. Коновалова

Научные руководители: А.И. Крюков, Н.Л. Кунельская, А.А. Темнов[1]

ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ (директор – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков) (117152, город Москва, Загородное шоссе, дом 18А, строение 2)

Sverzhevky Research Institute of Clinical Otorhinolaryngology, Moscow, Russia

[1]Лаборатория химического и биотехнологического синтеза Московского физико-технического института (национальный исследовательский университет) (зав. лабораторией – д.м.н. А.А.Темнов). Московская область, г. Долгопрудный, 141701.

Moscow Institute of Physics and Technology

Аннотация

Одной из ведущих причин в структуре заболеваний оториноларингологического профиля, приводящих к инвалидизации, является нейросенсорная тугоухость (НСТ). Акустическая травма и прием ототоксических лекарственных препаратов ожидаемо вызывают НСТ, что дает больше перспектив для отопротекции. Именно поэтому, целью нашей работы стало комплексное изучение динамики слуха в эксперименте на мышах методами регистрации коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП) и отоакустистической эмиссии на частоте продукта искажения (ОАЭПИ), в условиях акустической травмы и приема цисплатина. В результате исследования через месяц после начала эксперимента была сформирована стойкая тугоухость у всех животных с порогом слуха в среднем 70 дБ. При акустической травме максимально низкие показатели слуха зарегистрированы на 1 сутки после начала эксперимента (75 дБ). В течение первой недели выявлено наибольшие показатели улучшения слуха до 65 дБ. При цисплатин-индуцированной тугоухости первые значимые показатели снижения слуха также зарегистрированы через 7 дней от начала эксперимента, а максимально низкие - к 28 суткам (72 дБ).

***Ключевые слова*:**

Нейросенсорная тугоухость, Акустическая травма, цинспоатин, Экспериментальная модель, Узкополосный шум, КСВП, ОАЭПИ

***Сокращения*:**

НСТ- нейросенсорная тугоухость
КСВП – коротко латентные слуховые вызванные потенциалы
ОАЭПИ – отоакустическая эмиссия на частоте продукта искажения

Введение

Слуховая функция у млекопитающих играет ключевую роль в развитии и прогрессировании вида. Для человека слух – это возможность общения и построения социальных отношений [1]. Доказано, что стойкая не реабилитированная тугоухость может стать одной из причин формирования социальной изоляции, а также снижения когнитивной функции вплоть до деменции. В современном мире проблемы снижения слуха не теряют своей актуальности, а научные исследования, направленные на их решения – своей востребованности. По данным ВОЗ каждый четвертый взрослый старше 65 лет страдает от инвалидизирующей потери слуха. Основной причиной снижения слуха является НСТ – поражение рецепторных клеток внутреннего уха [2]. А учитывая, что НСТ – заболевание, которое чаще встречается в старшей возрастной группе, несомненна тенденция по увеличению представленности данной нозологической формы в развитых странах. Следует отметить, что проблема патологии слуха осложняется неспособностью нервных клеток к регенерации, а следовательно, повреждение слуховых рецепторов ведет к стойкому снижению слуха без перспектив к восстановлению.
Этиология формирования НСТ различна и может быть связана с сосудистой патологией, применением ототоксичных химических соединений, избыточной акустической нагрузкой, а также являться осложнением вирусной инфекции. Важно помнить, что современный городской житель находится в условиях более высокой стимуляции слухового анализатора в связи с частым расположением промышленных зон в черте города и ввиду ежедневного пребывания в окружении различных работающих механизмов. По оценкам ВОЗ 12% и более населения мира подвергается риску потери слуха из-за окружающего шума [3]. Особую группу высокого риска возникновения акустической травмы составляют охотники и лица, находящиеся в зоне военных конфликтов [4]. Еще одна группа риска – пациенты, принимающие препараты с ототоксическим эффектом, основные из которых представлены группой аминогликазидных антибиотиков (стрептомицин и гентамицин), цитостатиков (цисплатин) и противотуберкулезных средств [5,6,7]. Использование цитостатиков жизненно необходимо для пациентов с онкологическими образованиями различной локализацией и на настоящей момент ограничить их прием невозможно. Акустическую травму и ототоксическую лекарственную нагрузку объединяет перспектива развития НСТ, что в свою очередь диктует необходимость протекции слуха, т.к. известно, что ранняя терапия заболевания дает максимальный результат. В связи с тем, что слух является одним из основных показателей сохранности структур внутреннего уха, цель всех исследований в данном направлении – максимально пролонгированное сохранение его остроты. Экспериментальные исследования позволяют разобраться в причинах, патогенетических механизмах и локализации повреждений структур внутреннего уха, а полученная информация о причинах гибели нейроэпителия может стать ключом к разработке универсального отопротектора для различных форм НСТ.

Цель исследования: оценить динамику изменений слуховой функции мышей, возникших в результате острой акустической травмы и при цисплатин-индуцированной тугоухости.

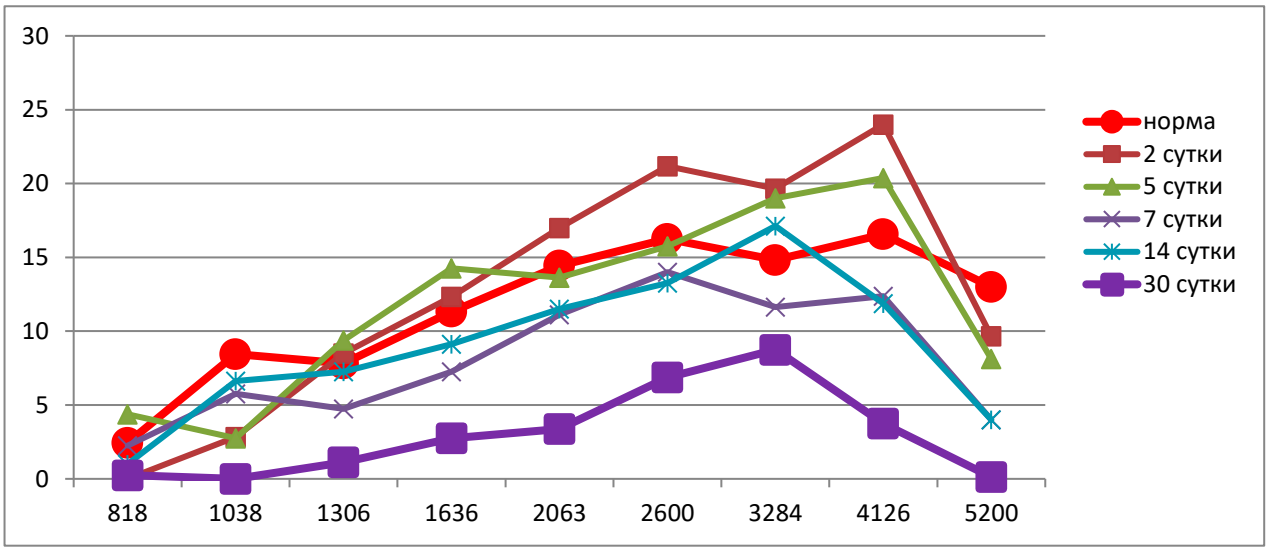
Материалы и методы: исследование проводилось на 20 мышах самцах чистой линии Balb/c в возрасте 2-6 месяцев с нормой слуха. В исследование были включены животные без патологии среднего уха, которая была исключена с помощью отоскопии и тимпанометрии. Далее всем животным проводилась оценка слуховой функции методом регистрации ОАЭПИ и КСВП до эксперимента. Порог слуха животных в среднем составил 34 ±4,6 дБ. Далее животные были поделены случайным образом на две группы: I группа – 10 мышей для цисплатин индуцированной тугоухости (12 мг/кг однократно интраперитониально); II группа – 10 животных для моделирования акустической травмы (оглушение проводилось узкополосным шумом с превалирующей частотой 4000-6000 Гц с

интенсивность 120 дБ в течении 4 часов). Исследование слуха проводили с помощью регистрации ОАЭПИ и КСВП до эксперимента, на 1, 7, 14, 28 сутки. В I группе на 5 сутки от острой печеночной недостаточности вследствие выраженной токсичности высокой дозы цисплатина погибло одно животное.

Цисплатин-индуцированная тугоухость I группа животных

По нашим данным снижение амплитуды ответа ОАЭПИ появилось на 7 сутки и достигло минимальных значений на 30 сутки. Следует отметить, что на 28 сутки ОАЭПИ у 77% ушей зарегистрировано не было (полученный ответ не превышал 4 дБ ни на одной частоте). Изменение средних значений амплитуды ответа ОАЭПИ по частотам во времени представлены на рис. №1.

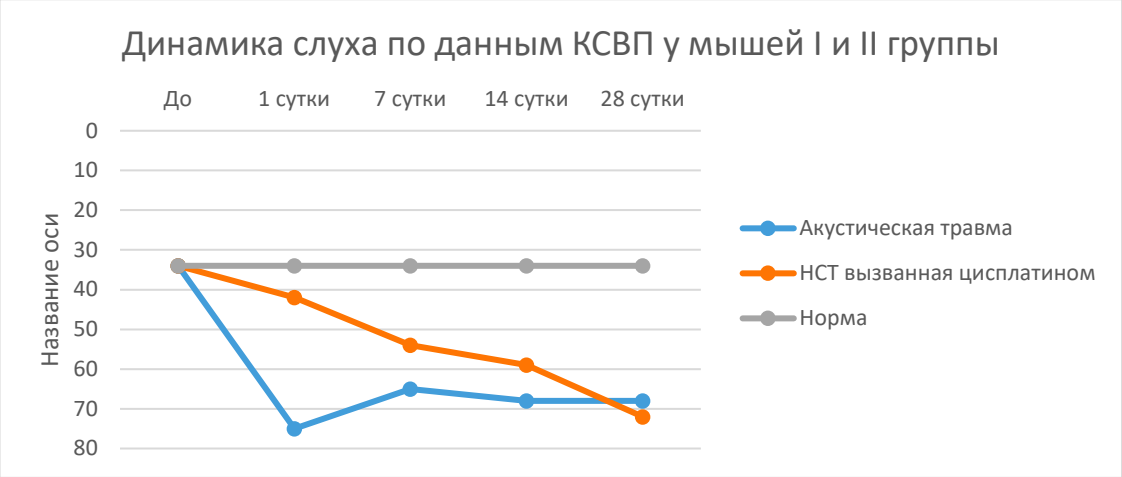
Рис. №1.



По данным КСВП значимое снижение порогов слуха возникло спустя 14 дней после начала эксперимента и составило 52дБ. Через месяц после введения цислатина у мышей I группы произошло стойкое снижение слуха, что характеризовалось повышением порога слуха до 72,57 ±17 дБ и отсутствием регистрации ОАЭПИ.

Акустическая травма II группа животных

В результате экспериментального исследования, проведенного на мышах линии Balb/c, была смоделирована акустическая травма у животных и проведен анализ динамики порогов слуха в течении месяца после акустической травмы. По данным ОАЭПИ ответ не был зарегистрирован уже на 1 сутки после звукового воздействия. Пороги слуха по данным КСВП на 1-е сутки после воздействия повысились у всех мышей и в среднем составили 75 дБ. Далее по данным КСВП зафиксировано постепенное улучшение слуха в течение 4-х недель после травмы с 75 дБ (1 сутки) до 68дБ на 28-е сутки, что свидетельствует о наличии ограниченного потенциала слухового анализатора лабораторной мыши к восстановлению. Наиболее активно слух мышей восстанавливался с 1-х по 7-е сутки после акустической травмы.



Заключение

Воздействие цисплатина оказывает ототоксический эффект на структуры внутреннего уха, что приводит к постепенному снижению амплитуды ответа, регистрируемого при ОАЭПИ, и к снижению порогов слуха. Достоверное снижение амплитуды ответа ОАЭПИ и порогов слуха до 54 дБ происходит уже на 7 сутки, но достигает максимальных значений спустя месяц после введения препарата. Данная модель в дальнейшем может использоваться для исследования подострой нейросенсорной тугоухости, однако необходимо учитывать выраженный токсический эффект цисплатина, в том числе и на структуры печени.
Озвучивание мышей высокочастотным шумом 4000-6000 Гц уровнем 120 дБ УЗД в течение 4 часов привело к отсутствию регистрации ОАЭПИ и стойкому повышению порогов слуха по данным КСВП уже на 1-е сутки (75 дБ). После акустической травмы в первую неделю по данным КСВП наблюдалась небольшая положительная динамика порогов слуха в среднем на 10 дБ. С 7-х по 14-е сутки средний порог слуха незначительно повысился, что может быть связано с погрешностью измерений. С 14-х по 28-е сутки изменения среднего порога слуха практически не наблюдалось. Экспериментальная модель острой акустической травмы с установленными в данной работе параметрами повреждающего воздействия в сочетании с регистрацией КСВП может быть использована при дальнейшем изучении разных видов нарушения слуха и разработке методов их лечения.

Обсуждение

От этиологического фактора зависят патологические процессы, проходящие в улитке, т.е. влияние на скорость повреждения структур внутреннего уха и соответственно на динамику снижения слуха может быть различной. Согласно результатам ряда экспериментальных исследований, накопление цисплатина происходит в базилярной мембране и распространяется к верхушке, сосудистой полоске и вестибулярной части улитки. Причем наибольшее количество цисплатина кумулируется в сосудистой полоске. Цисплатин индуцирует генерацию активных форм кислорода, которые повреждают структуры клеток. [9] При этом в клетках происходят изменения, характерные для апоптоза: пикноз и уплотнение ядра, ДНК-фрагментация в органе Корти, спиральном ганглии и сосудистой полоске [10,11,12].
Изменения, вызываемые воздействием шума высокой интенсивности, затрагивают как периферическую (улитковую) ткань, так и центральную слуховую систему, приводя к отмиранию как внутренних, так и наружных волосковых клеток, гибели нейронов спирального ганглия и дегенерации слухового нерва [13]. При акустической травме наряду с метаболическими изменениями в клетках, таких как образование свободных радикалов, приводящее к окислительному стрессу, нарушению работы митохондрий,

эндоплазматического ретикулюма и, как следствие, энергетического обмена нероэпителия внутреннего уха, активную роль в гибели клеток играет механический фактор [14]. Механические повреждения зависят от интенсивности шумого воздействия и характеризуются физическим разрушением целых клеток и/или определенных клеточных компонентов, таких как актин, что приводит к нарушению ионного гомеостаза и последующей гибели волосковых клеток из-за ионного отравления [15]. Легкий или умеренный шум может привести к потере концевых связей стереоцилий, нарушению организации актина в стереоцилиях. При этом возможна реорганизация этих структур и последующее восстановление слуха [16].

Разница в патогенетических изменениях, происходящих в улитке в результате повреждений различной этиологии, обуславливает разную картину в последующей динамике слуха. Однако, анализ результатов показал, что при острой и подострой тугоухости, основные изменения происходят в течение первой недели от начала эксперимента вне зависимости от причины поражения слуха. Известно, что в терапии НСТ время оказания медицинской помощи играет решающую роль: «чем раньше начато лечение, тем оно будет эффективней». Это подтверждают результаты нашего исследования, сужая временной интервал, в котором происходят основные изменения слуха, до недели. Возможно, при формировании подострой НСТ тугоухости интервал воздействия, а значит и эффективность своевременно начатой терапии, все-таки выше, что требует дальнейших исследований в заявленном направлении.

ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tambs, Kristian Moderate effects of hearing loss on mental health and subjective well-being: results from the Nord-Trøndelag Hearing Loss Study. [Текст] / Tambs, Kristian // Psychosomatic medicine. — 2004. — № 66.5. — С. 776-782
2. В. Т. Пальчун, М. М. Магомедов, Л. А. Лучихин Оториноларингология : учебник для студентов медицинских вузов [Текст] / В. Т. Пальчун, М. М. Магомедов, Л. А. Лучихин — 2-е изд. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008 — 503 с.
3. WHO. Deafness and Hearing Loss. / [Электронный ресурс] // WHO : [сайт]. — URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss (дата обращения: 10.12.2023).
4. Рыжиков, М. А., С. М. Кузнецов, С. М. Логаткин, Л. П. Терентьев, М. С. Кузнецов Гигиеническая характеристика импульсного шума, возникающего при стрельбе из стрелкового оружия. / Рыжиков, М. А., С. М. Кузнецов, С. М. Логаткин, Л. П. Терентьев, М. С. Кузнецов // Вестник Российской военно-медицинской академии. — 2016. — № 1. — С. 149-153
5. Богомильский М.Р., Дьяконова И.Н, Рахманова И.В., Сапожников Я.М., Стаховская О.А., Тихомиров А.М. Электрофизиологическая оценка слуховой функции после введения цисплатина. Вестник оториноларингологии 2010; 3: 24-26.

Bogomil'skij M.R., D'yakonova I.N, Rahmanova I.V., Sapozhnikov YA.M., Stahovskaya O.A., Tihomirov A.M. Elektrofiziologicheskaya ocenka sluhovoj funkcii posle vvedeniya cisplatina. Vestnik otorinolaringologii 2010; 3: 24-26. (In Russ.).
6. Иванов С.А., Журавский С.Г., Галагудза М.М. Цисплатиновая ототоксичность. Вестник оториноларингологии. 2012;77(4):82-87.
7. Дьяконова И.Н., Рахманова И.В., Тихомиров А.М., Ишанова Ю.С., Котов Р.В. Влияние амикацина на созревание слухового анализатора у кроликов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Том. 151. №5. С. 536–539.
8. Остроумова О.Д., Ших Е.В., Реброва Е.В., Рязанова А.Ю., Переверзев А.П. Лекарственно-индуцированная тугоухость как проявление лекарственно-индуцированной ототоксичности. Вестник оториноларингологии. 2019;84(4):72-80. Ostroumova OD, Shikh EV, Rebrova EV, Ryazanova AYu, Pereverzev AP. Drug-induced hearing loss as a manifestation

of drug-induced ototoxicity. Vestnik Oto-Rino-Laringologii. 2019;84(4):72-80. (In Russ.) https://doi.org/10.17116/otorino20198404172

9. *Santos N.A.G.D.* Overview of cisplatin-induced neurotoxicity and ototoxicity, and the protective agents / N.A.G.D. Santos, R.S. Ferreira,A.C.D.Santos // Food Chem Toxicol. - 2020;136:111079

10. Ford M.S., Nie Z., Whitworth C., Rybak L.P. et al. Up- regulation of adenosine of receptors in the cochlea by cisplatin // Hear Res. 1997. Vol. 111. № 1-2. P. 143–152.,

11. Lanvers-Kaminsky C., Ciarimboli G. Pharmacogenetics of drug-induced ototoxicity caused by aminoglycosides and cisplatin //Pharmacogenomics. – 2017. – Т. 18. – №. 18. – С. 1683-1695.

12. Кудеева, Я. Ю. Патогенетические особенности поражения периферического отдела слухового анализатора под воздействием цисплатина (клинико-экспериментальное исследование) : специальность 14.01.03 "Болезни уха, горла и носа" : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Кудеева Яна Юрьевна. – Москва, 2015. – 22 с. – EDN ZPWCZZ.

13. Baizer, J. S., Wong, K. M., Manohar, S., Hayes, S. H., Ding, D., Dingman, R., & Salvi, R. J. Effects of acoustic trauma on the auditory system of the rat: the role of microglia. [Текст] / Baizer, J. S., Wong, K. M., Manohar, S., Hayes, S. H., Ding, D., Dingman, R., & Salvi, R. J. // Neuroscience. — 2015. — № 303. — С. 299-311.

14. Wang, X., Zhu, Y., Long, H., Pan, S., Xiong, H., Fang, Q., Sha, S. H. Mitochondrial calcium transporters mediate sensitivity to noise-induced losses of hair cells and cochlear synapses. [Текст] / Wang, X., Zhu, Y., Long, H., Pan, S., Xiong, H., Fang, Q., Sha, S. H. // Frontiers in Molecular Neuroscience. — 2019. — № 11. — С. 469.

15. Hu, B. H., Henderson, D. Changes in F-actin labeling in the outer hair cell and the Deiters cell in the chinchilla cochlea following noise exposure. [Текст] / Hu, B. H., Henderson, D. // Hearing research. — 1997. — № 110(1-2). — С. 209-218.

16. Holt, A. G., Kühl, A., Braun, R. D., Altschuler, R. The rat as a model for studying noise injury and otoprotection. [Текст] / Holt, A. G., Kühl, A., Braun, R. D., Altschuler, R. // The Journal of the Acoustical Society of America. — 2019. — № 146(5). — С. 3681-3691.

ДИАГНОСТИКА СИНДРОМА ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА НА ОСНОВЕ АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СИНХРОНИЗАЦИИ В СИГНАЛАХ ПОЛИСОМНОГРАФИИ

М.Ю. Новиков

ФГБУ «НМИЦ терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г. Москва

Аннотация. Нарушения сна, в том числе синдром обструктивного апноэ во время сна, являются серьезной междисциплинарной научной и практической медицины. Основным методом исследованийв этой области является анализ сигналов полисомнограмм с применением методов нелинейной динамики. Целью данной работы была попытка поиска устойчивых биомаркеров наличия и тяжести синдрома обструктивного апноэ сна на основе анализа синхранизации сигналов электроэнцефалографии во время сна у пациентов, страдающих нарушениями дыхания во сне. В ходе исследовании было показано, что у пациентов с обструктивным нарушением сна по сравнению со здоровыми добровольцами достоверно снижается межполушарная синхронизация электроэнцефалографических сигналовю. Кроме того, на основе полученных данных, был предложен функциональный биомаркер, позволяющий достоверно разделить пациентов на группы по степени тяжести апноэ-гипопноэ.

***Ключевые слова*:** нарушения сна, синдром обструктивного апноэ сна, полисомнография, электроэнцефалография, нелинейная динамика

Список сокращений:

ИАГ – индекс апноэ-гипопноэ

МИС – медицинская информационная система

ПСГ – полисомнография, полисомнограмма

СОАС – синдром обструктивного апноэ сна

ЭКГ – электрокардиография, электрокардиограмма

ЭЭГ – электроэнцефалография, электроэнцефалограмма

1. Введение

Исследование ночного сна и его нарушений сегодня является важной и перспективной задачей научной и практической медицины. С одной стороны, патологические нарушения, в том числе неврологические расстройства [1, 2], кардиологические заболевания [3-5], эндокринные нарушения, сопровождаются субъективным ухудшением качества и изменениями структуры ночного сна у пациентов. В то же время, возникновение нарушений ночного сна в свою очередь способствуют ухудшению как течения основного заболевания, так и возникновения дальнейших сопутствующих синдромов.

Наиболее изученным сегодня первичным синдромом нарушения ночного сна остаётся синдром обструктивного апноэ сна (СОАС), характеризующийся периодическими периодами

обструкции дыхательных путей во сне с эпизодами апноэ или гипопноэ [6, 7]. Согласно некоторым исследованиям, распространение ночного обструктивного апноэ может достигать по популяции около 15 - 30 % для мужчин и 10 – 15 % для женщин [8, 9], что делает СОАС одним из самых часто встречающихся заболеваний в мире и, вероятно, что распространенность этой патологии в дальнейшем будет только расти. При этом СОАС является одним из серьезных дополнительных факторов риска для развития, заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе артериальной гипертензии и нарушений ритма сердца, и других патологических изменений [10, 11]. Таким образом, диагностика и оценка тяжести СОАС у пациентов, а также проблема раннего выявления подобных нарушений, является важной практической задачей.

Одним из основных инструментов по изучению нарушений ночного сна является проведение полисомнографических (ПСГ) исследований, результатом которых является набор физиологических сигналов в цифровом виде, характеризующих состояние пациента во время сна. После записи всего набора данных врач-сомнолог, опираясь на методы визуального анализа, выполняет расшифровку ПСГ, производя разделение всего ночного сна на ряд принятых стадий – медленный сон (N1, N2, N3), быстрый сон (сон с быстрыми движениями глаз, REM), а также стадия пробуждения [12, 13].

Подобный подход является достаточно трудоемким, дорогим и субъективным, что существенно усложняет его массовое применение на больших выборках пациентов. В связи с этим, не ослабевает интерес к проблеме поиска простых информативных биомаркеров, позволивших бы автоматически детектировать различные события и состояния, устойчивых к шуму и индивидуальной вариабельности, свойственным биомедицинским сигналам. Развитие таких методов и систем независимых численных оценок биомедицинских сигналов, регистрируемых во время сна человека, является весьма перспективным междисциплинарным направлением развития информационных систем и медицины сна.

В нашем исследовании мы предпринимаем попытку использования подходов нелинейной динамики, а именно оценки синхронизации сигналов ПСГ на основе метода вейвлетной бикогерентноти, для поиска биомаркеров наличия и тяжести СОАС у пациентов с кардиоваскулярной патологией и здоровых добровольцев.

Исследование проведено в рамках научной работы «Разработка алгоритмов распознавания маркеров нарушений дыхания во сне у пациентов с различными формами сердечно-сосудистой патологии», выполняемой в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России в соответствии с государственным заданием Минздрава России № 122013100209-5 (2022-2024 гг.).

2. Материалы и методы

2.1. Математический аппарат

Для анализа сигналов ПСГ использовалась оценка синхронизации с применением метода вейвлетной бикогерентности. Бикогерентность вейвлета зарекомендовала себя как очень мощный инструмент для количественной оценки взаимодействий в различных колебательных масштабах в биомедицинских сигналах [14], включая активность головного мозга [15].

Пусть в процессе регистрации полисомнографии записываются n сигналов, которые обозначим как $\{x_1(t); \dots x_i(t) \dots x_n(t)\}$. Мы рассчитываем комплексные вейвлетные коэффициенты $W_i(f, t_0)$ для каждой записи $x_i(t)$ следующим образом:

$$W_i(f, t_0) = \sqrt{f} \cdot \int_{t_0-4/f}^{t_0+4/f} \mathrm{x}_i(t) \cdot \psi^*(f, t - t_0) \cdot dt, \quad (1)$$

где i – текущий номер рассматриваемого канала, t_0 определяет временной момент локализации базовой вейвлет – функции на времени регистрации сигнала, «*» обозначает операцию комплексного сопряжения, а $\psi^*(f, t)$ – базовая вейвлет – функция. Мы используем стандартный вид базового вейвлета, а именно Морле-вейвлет, который часто используется для обработки реальных сигналов биомедицинской природы [14]:

$$\psi(f, t - t_0) = \sqrt{f} \cdot \pi^{-1/4} \cdot exp\big(\imath \cdot \omega_0 \cdot f \cdot (t - t_0)\big) \cdot exp\left(-f^2 \cdot {(t - t_0)^2}/{2}\right), \quad (2)$$

где ω_0 – параметр масштабирования базовой вейвлет-функции, $\imath$ – мнимая единица. Известно, что, используя для базового Морле-вейвлета параметр масштабирования $\omega_0 = 2\pi$, может быть достигнуто оптимальное разрешение при представлении сигналов ЭЭГ и ЭКГ на частотно-временной плоскости [16].

Для количественного измерения степени схожести, т. е. синхронизации, двух сигналов, мы будем использовать подход оценки вейвлетной бикогерентности. Обозначим два произвольных сигнала $x_i(t)$ и $x_j(t)$. Тогда мы можем рассчитать для каждого из них соответствующие комплексные значения вейвлет-коэффициентов, т. е. $W_i(f, t) = a_i + \imath\, b_i$ и $W_j(f, t) = a_j + \imath\, b_j$.

Вейвлетная бикогерентность, $\mathrm{WB}_{ij}(f, t)$, оценивается по взаимному вейвлет-спектру $W_{i,j}(f, t)$ сигналов $\mathrm{x}_i(t)$ и $\mathrm{x}_j(t)$. Аналогично [15, 17] коэффициенты, $\mathrm{Re}[\mathrm{WB}_{ij}(f, t)]$ и $\mathrm{Im}[\mathrm{WB}_{ij}(f, t)]$, представляющие собой действительную и мнимую части взаимного вейвлет-спектра, могут быть рассчитаны как:

$$Re\big[\mathrm{WB}_{i,j}(f, t)\big] = \frac{a_i(f,t) \cdot a_j(f,t) + b_i(f,t) \cdot b_j(f,t)}{\sqrt{a_i^2(f,t) + b_i^2(f,t)} \cdot \sqrt{a_i^2(f,t) + b_i^2(f,t)}}, \quad (3)$$

и

$$Im\big[\mathrm{WB}\tau_{i,j}(f, t)\big] = \frac{b_i(f,t) \cdot a_j(f,t) - a_i(f,t) \cdot b_j(f,t)}{\sqrt{a_i^2(f,t) + b_i^2(f,t)} \cdot \sqrt{a_i^2(f,t) + b_i^2(f,t)}}, \quad (4)$$

Таким образом, величина когерентности, т. е. синхронизации двух каналов, $x_i(t)$ и $x_j(t)$, на частоте f между собой вычисляется следующим образом

$$\tau_{i,j}(f,t) = \sqrt{\left(Re\left[\mathrm{WB}_{i,j}(f,t)\right]\right)^2 + \left(Im\left[\mathrm{WB}_{i,j}(f,t)\right]\right)^2}. \quad (5)$$

При единичной вейвлетной бикогерентности, $\mathrm{WB}_{i,j}(f,t) = 1$, сигналы $x_i(t)$ и $x_j(t)$ являются полностью синхронными в момент времени *t* на частоте *f*. Обратно, в случае нулевой бикорегерентности, $\mathrm{WB}_{i,j}(f,t) = 0$, сигналы демонстрируют полностью асинхронный режим. Соответственно, величина $\mathrm{WB}_{i,j}(f,t)$, изменяясь в пределах данных граничных значений [0; 1], предоставляет полную информацию о связности сигналов на частотно-временной плоскости (*f*; *t*).

2.2. Набор данных

Аанализ проводился на основе базы машинно-читаемых комплексов данных, включающей в себя записи ПСГ пациентов во время ночного сна, удовлетворивших первичным проверкам качества записей, дополненных клиническими данными из МИС «Медиалог». База состоит из данных 548 человек, включая группу пациентов с легкой степенью СОАС (n = 115), пациентов со средней и тяжелой степенью СОАС (n = 247), пациентов без апноэ во сне (n = 154), пациентов, имеющие признаки ночной гиповентиляции (n = 22), а также условно здоровых добровольцев (n = 10) с результатами двухкратно выполненных ПСГ исследований.

Набор основного клинического материала был выполнен в течение 2022 года. В ПСГ были включены сигналы электрокардиограммы (ЭКГ), функции дыхания, окулограммы, электромиограммы и электроэнцефалограммы (ЭЭГ), регистрируемые во время ночного сна. Сигнал ЭКГ регистрировали в I стандартном отведении по Эйнтховену. Сигналы дыхания регистрировали проточным ороназальным датчиком температуры и с использованием датчика храпа. Сигналы электромиограммы были записаны на предплечье правой руки и икре левой ноги пациента. Сигналы окулограмы включили записи горизонтальных и вертикальных движений глаз. Сигналы ЭЭГ регистрировали в 6 стандартных отведениях по схеме «10-20». Сигналы ЭЭГ, ЭКГ и функции дыхания фильтровались с полосой пропускания 0.5 – 40 Гц и были дискретизированы с частотой 100 Гц.

2.3. Порядок анализа данных

Все записи ПСГ были проанализированы сертифицированным врачом-сомнологом с целью стадирования ночного сна. В группе СОАС пациентов несколько увеличено среднее количество периодов бодрствования, что обусловлено непосредственно особенностями диагноза. Однако, статистически значимых различий в продолжительности и количестве стадий сна между пациентами с апноэ и практически здоровыми участниками не было обнаружено.

На следующем этапе пациенты были разделены по тяжести ночного синдрома обструктивного апноэ на следующие классы: класс 1 (средний индекс апноэ-гипопноэ (ИАГ) < 10), класс 2 (10 < ИАГ < 20), класс 3 (20 < ИАГ < 50), класс 4 (50 < ИАГ).

Для каждого из этих классов пациентов по записям полисомнографии оценивались уровни синхронизации в различные стадии сна и периоды бодрствования, а также за всю общую продолжительность ночной записи. Уровни синхронизации рассчитывались для 14 частотных диапазонов.

3. Результаты и обсуждение

На основе описанного подхода нам удалось выявить, что уровень межполушарной синхронизации между симметричными отведениями у пациентов с апноэ снижается, что особо заметно для затылочных и центральных каналов (O2 и O1, C4 и C3, соответственно) (см. рисунок 1).

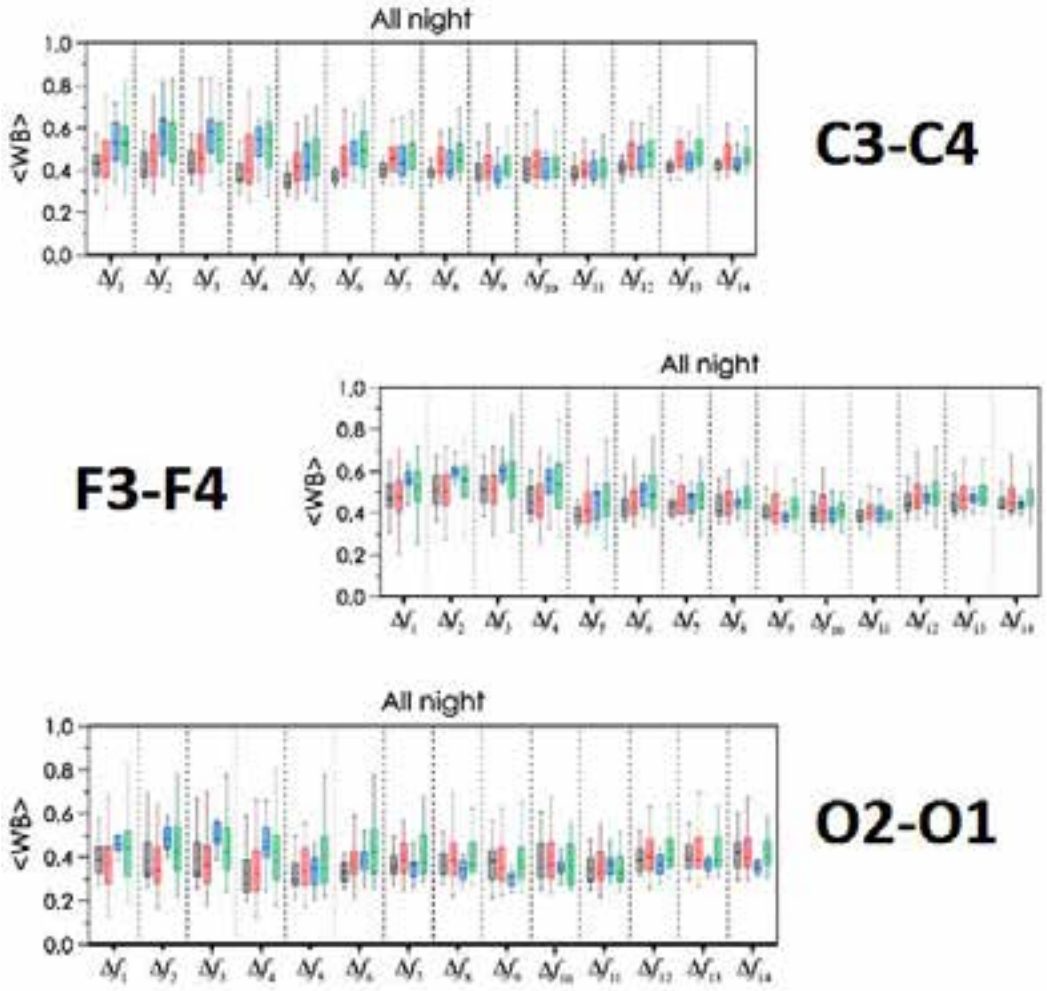


Рисунок 1. Распределения силы связей $\langle \mathrm{WB}_{i,j}^{\Delta f_k} \rangle^{\mathrm{I,II,III,IV}}$ для классов 1 (зеленый цвет), 2 (синий цвет), 3 (красный цвет) и 4 (серый цвет) между соответствующими симметричными каналами ЭЭГ при анализе всей продолжительности ПСГ

Интересной особенностью оказалась значительная нелинейность данного тренда в снижении межполушарной синхронизации при увеличении тяжести СОАС, то есть при увеличении показателя ИАГ. В частности, наглядно видно, что у пациентов с ИАГ < 10, т. е.

практически без событий остановки дыхательной функции во время ночного сна, распределение уровня синхронизации весьма широкое, а медианное и среднее значения не превышают аналогичные показатели, зафиксированные в группе с 10 < ИАГ < 20.

Для выявления причин данного нелинейного тренда был дополнительно проведен анализ клинических карт и полных результатов проведенных диагностических мероприятий пациентов, вошедших в данные классы. Было выяснено, что набор пациентов в данную клиническую базу данных обладал определенной спецификой, а именно – класс пациентов с ИАГ < 10 не имели особых жалоб, непосредственно связанных с качеством ночного сна. Таким образом, на проведение полных полисомнографий они попадали по направлению других специалистов, чаще всего – кардиологов. Иными словами, пациенты 1 класса, обладающие малым расстройством дыхательной функции во время ночного сна, попадают к врачу-сомнологу только лишь при наличии выраженных проблем в сердечно-сосудистой системе, которые, вероятно, дополнительно влияют на изменение уровня синхронизации.

Дополнительно проведенный анализ клинических описаний показал, что пациенты из 2 класса по ИАГ являются пациентами без выраженных патологий внутренних органов и сердечно-сосудистых нарушений, и именно они в первую очередь обращаются к врачу по профилю сомнологии.

Однако, больший интерес, на наш взгляд, представляют результаты, полученные при анализе меры синхронизации между сигналами кардиоваскулярной системы. В частности, на рисунке 2 приведена оценка синхронизации, выполненная по сигналам электрокардиограммы и фотоплетизмограммы.

Здесь наглядно видно, насколько отличается уровень синхронизации для пациентов с относительно малой степенью ИАГ и пациентов с выраженным синдромом апноэ. В целом, для пациентов с ИАГ, превышающем 50, мера синхронизации существенно повышается до 0,2 – 0,3 на фоне величин 0,05 – 0,15 для остальных групп пациентов. В то же время, наиболее низкочастотная полоса, Δf_1, демонстрирует наименее выраженный характер для данного тренда. Особый интерес вызывает мера синхронизации для частотного диапазона Δf_{11}, определенная в N3 и REM стадии сна. Условно наиболее глубокие состояния сна, характеризуются максимальными различиями в мере синхронизации между группами пациентов с ИАГ меньше и больше 20. Обнаруженные различия являются достоверными с уровнем $p < 0{,}0005$.

Данное обстоятельство позволяет использовать оценку синхронизации между каналами электрокардиограммы и фотоплетизмограммы в качетстве потенциального биомаркера тяжести СОАС у пациентов с подозрением на нарушение сна.

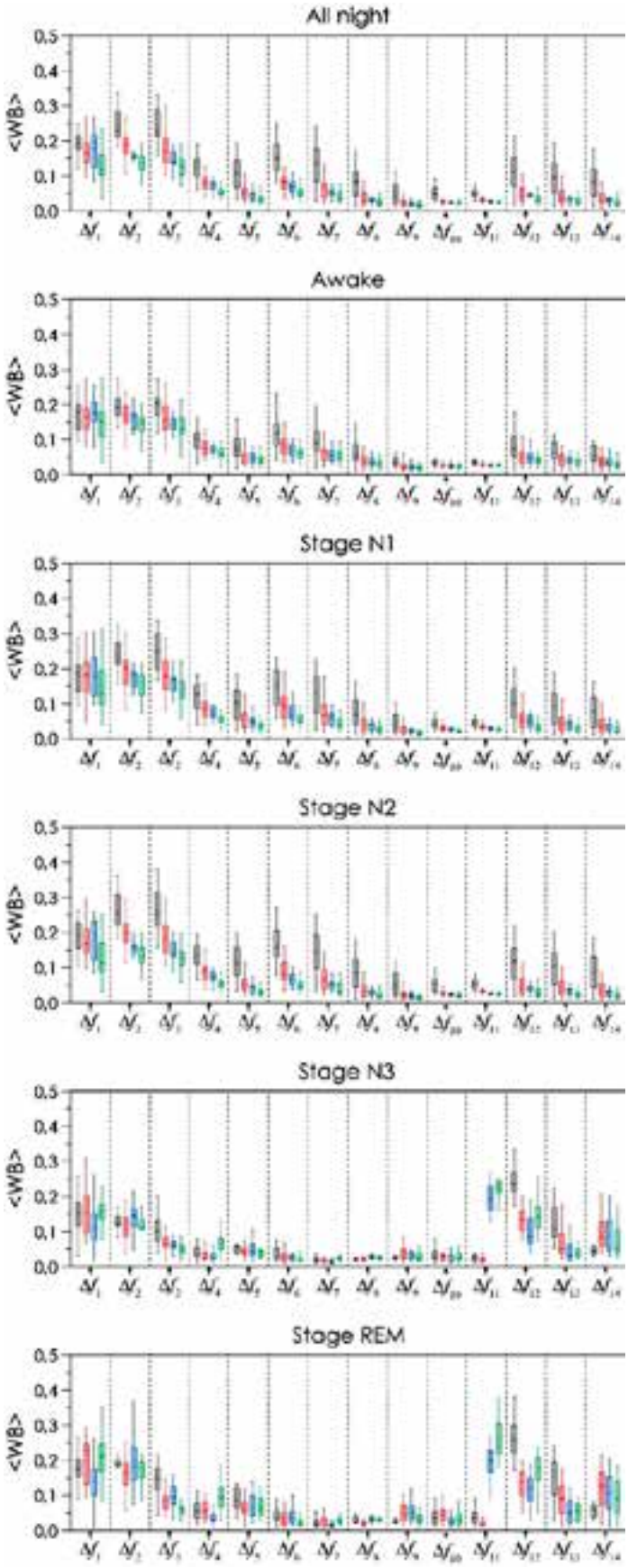


Рисунок 2. Распределения силы связей $\langle \mathrm{WB}_{i,j}^{\Delta f_k} \rangle^{\mathrm{I,II,III,IV}}$ для классов 1 (зеленый цвет, ИАГ<10), 2 (синий цвет, 10 < ИАГ < 20), 3 (красный цвет, 20 < ИАГ < 50) и 4 (серый цвет, 50 < ИАГ) для разных стадий сна между каналами SaO2-EKG

4. Заключение

Таким образом, в ходе исследования, нами была введена и изучена мера синхронизации сигналов ПСГ на основе оценки вейвлетной бикогерентности у пациентов с обструктивным нарушением сна. Показано, что при синдроме обструктивного апноэ ночного сна электрическая активность головного мозга демонстрирует существенное снижение межполушарной синхронизации при рассмотрении сигналов парных каналов ЭЭГ полисомнограммы по сравнению со здоровыми добровольцами.

Помимо этого, нами предложен функциональный биомаркер для оценки тяжести проявлений обструктиваного апноэ сна на основе оценки синхронизации, выполняемой по сигналам электрокардиограммы и фотоплетизмограммы в частотном диапазоне [12; 14] Гц для N3 и REM стадий сна. Показано, что в группах пациентов с различными стадиями обструктивного апноэ сна при артериальной гипертонии и других сердечно-сосудистых заболеваниях этот показатель демонстрирует значимые различия ($p < 0{,}0005$) между группами пациентов с индексом апноэ-гипопноэ меньше и больше 20.

Полученные результаты ложатся в основу более масштабного проекта по разработке комплекса алгоритмов автоматической объективной оценки полисомнографических сигналов с целью формирования автоматизированных диагностических систем, способных к комплексному анализу состояния пациента и раннему обнаружению признаков наличия и тяжести нарушений сна и других патологических состояний, что может быть особенно важно у коморбидных пациентов или пациентов, находящихся в группе риска.

ЛИТЕРАТУРА

1. André C. et al. Association of sleep-disordered breathing with Alzheimer disease biomarkers in community-dwelling older adults: a secondary analysis of a randomized clinical trial // JAMA neurology. – 2020. – Т. 77. – №. 6. – С. 716-724.

2. Babiloni A. H. et al. The effects of non-invasive brain stimulation on sleep disturbances among different neurological and neuropsychiatric conditions: A systematic review // Sleep medicine reviews. – 2021. – Т. 55. – С. 101381.

3. Lisabeth L. D. et al. Sleep-disordered breathing and poststroke outcomes // Annals of neurology. – 2019. – Т. 86. – №. 2. – С. 241-250.

4. Baillieul S. et al. Diagnosis and management of central sleep apnea syndrome // Expert review of respiratory medicine. – 2019. – Т. 13. – №. 6. – С. 545-557.

5. Yeghiazarians Y. et al. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association // Circulation. – 2021. – Т. 144. – №. 3. – С. e56-e67.

6. Redline S., Azarbarzin A., Peker Y. Obstructive sleep apnoea heterogeneity and cardiovascular disease //Nature Reviews Cardiology. – 2023. – С. 1-14.

7. Xu Z. et al. Risk factors of obstructive sleep apnea syndrome in children //Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery. – 2020. – Т. 49. – №. 1. – С. 1-7.

8. Din A. U., Iqbal Z., Imran M. Epidemiology of obstructive sleep apnea: A decade Long experience of Polysomnography in tertiary care hospital of Peshawar. – 2023.

9. Peppard P. E. et al. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults //American journal of epidemiology. – 2013. – Т. 177. – №. 9. – С. 1006-1014.

10. Yaggi H. K. et al. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death //New England Journal of Medicine. – 2005. – Т. 353. – №. 19. – С. 2034-2041.

11. Mone P. et al. Epidemiology of obstructive sleep apnea: What is the contribution of hypertension and arterial stiffness? //The Journal of Clinical Hypertension. – 2022. – Т. 24. – №. 4. – С. 395.

12. American Academy of Sleep Medicine et al. International classification of sleep disorders 3rd ed. online version, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2014. – 2014.

13. Swihart B. J. et al. Characterizing sleep structure using the hypnogram //Journal of Clinical Sleep Medicine. – 2008. – Т. 4. – №. 4. – С. 349-355.

14. Hramov A. E. et al. Wavelets in neuroscience. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2015.

15. Makarov V. V. et al. Betweenness centrality in multiplex brain network during mental task evaluation //Physical Review E. – 2018. – Т. 98. – №. 6. – С. 062413.

16. Sitnikova E. et al. Time-frequency characteristics and dynamics of sleep spindles in WAG/Rij rats with absence epilepsy //Brain research. – 2014. – Т. 1543. – С. 290-299.

17. Bandrivskyy A. et al. Wavelet phase coherence analysis: application to skin temperature and blood flow //Cardiovascular engineering: an international journal. – 2004. – Т. 4. – С. 89-93.

НОВЫЙ ЭТАП РАЗВИТИЯ ДИАГНОСТИКИ ПОВЕРХНОСТНЫХ МИКОЗОВ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

К.К. Носырева, Е.С. Негашева, С.А. Полевщикова, А.Е. Гущин

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения Москвы», Москва

Введение. Поверхностные микозы (ПМ) сегодня являются глобальной проблемой и серьезным бременем для общественного здравоохранения во всем мире. Факторы, влияющие на развитие ПМ, включают возраст, пол, климат, городскую среду, социально-экономический уровень и культурные привычки, а также географическое положение [1]. Причиной возникновения большинства ПМ являются кератинофильные грибы – дерматомицеты (дерматофиты), которые способны проникать в ткани и питаться ороговевшими субстратами, такими как кожа, волосы и ногти [2]. Такие микозы кодируются в МКБ 10 шифром B35, как дерматофитии.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), дерматофитиями страдают около 25 % населения мира [3], а от 30 до 70 % взрослых являются бессимптомными носителями этих заболеваний. В географических регионах с высокой распространенностью заболеваемость дерматофитными инфекциями может достигать 40–60 % [4, 5]. В Российской Федерации в 2022 году заболеваемость дерматофитиями составила 236665 случаев, или 161,0 случай на 100 000 населения [6].

Согласно последней введенной таксономии, к дерматомицетам относят более чем 50 видов, а семейство Arthrodermataceae, распределено на 7 родов *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, Nannizzia, Arthroderma, Lophophyton, Paraphyton и Guarromyces*. Клиническое значение при этом имеют виды, относящиеся к родам *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton,* вызывающие микозы кожи и ее придатков, классифицируемые как трихофитии, микроспории и эпидермофитии [7].

Наиболее распространенными возбудителем среди детей и подростков, вызывающий микроспорию, является *Microsporum canis*, источником заражения чаще всего являются домашние животные. Дерматофиты, вызывающие трихофитию, выделяемые у пациентов с гладкой кожи и волосистой части головы, включают виды рода *Trichophyton*, которые становятся все более распространенными [8].

Дерматофитии относятся к хроническим рецидивирующим инфекционным заболеваниям, не способным к самоизлечению. При отсутствии специфического лечения

могут развиваться необратимые изменения в очагах поражения. В связи с высокой контагиозностью микроспории и трихофитии при выявлении случая инфекции вводятся карантинные мероприятия, и обе формы дерматофитии подлежат статистическому учету. Не стоит также забывать о том, что симптомы дерматофитий часто схожи с симптомами псориаза или иных дерматозов (гнездная алопеция, импетиго, экзема, себорейный дерматит, трихотилломания, красная волчанка и др.), поэтому абсолютно необходимой процедурой для установления этиологического диагноза является лабораторная диагностика, т.к. лечение пациента напрямую зависит от определяемого вида дерматомицета ввиду разного уровня их чувствительности к противогрибковым препаратам. Так, виды *Trichophyton* более чувствительны к тербинафину. в то время как виды *Microsporum* более чувствительны к гризеофульвину [9]. Кроме того, антимикотические препараты обладают рядом побочных эффектов, а учитывая, что схемы лечения пациентов с диагнозом «микоз» предполагают длительные сроки (недели-месяцы), то объективность назначения того или иного препарата должна быть строго обоснована.

Таким образом, для постановки диагноза дерматофитии требуется лабораторное подтверждение наличия грибов дерматофитов с уточнением их вида, на основе чего строится дальнейшая тактика специфического лечения. Однако рутинные микробиологические методы диагностики (микроскопия, микологический посев) крайне неэффективны и позволяют выявить не более 10-30 % случаев заболевания, при этом главным недостатком КОН-микроскопии является невозможность проведения видовой идентификацию грибов [10]. Исследование с помощью посева затрагивает изучение макро- и микроморфологии выделенной чистой культуры [11]. Однако физиологические свойства культур у разных видов дерматомицетов могут иметь схожие показатели и характеристики. Культуральное исследование занимает от 2 до 4 недель ввиду медленного роста культуры, что сказывается на сроках лечебно-профилактических и противооэпидемических мероприятий.

Таким образом, для повышения эффективности лабораторной диагностики поверхностных микозов кожи актуальна разработка новых, высоко чувствительных и специфичных современных методов, лишенных перечисленных выше недостатков.

Более быстрые и точные исследования в области медицинской микологии в настоящее время обещает развитие молекулярных методов диагностики [12]. В зарубежных обзорах уже накоплено большое количество научно-экспериментальных данных в пользу молекулярно-генетических методов диагностики на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) [13,14,15].

В Российской Федерации в 2008 году на основе ПЦР с электрофоретической детекцией был разработан набор реагентов для выявления ДНК *T. rubrum. T. mentagrophytes*, который нашел практическое применение в диагностике онихомикоза [16]. Однако наибольший интерес представляют методы, основанные на ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), позволяющие выявлять и идентифицировать широкий спектр клинически значимых видов дерматофитов с высокой чувствительностью и специфичностью, т.к. дерматофитии, вызываемые различными возбудителями, часто имеют сходную клиническую картину; при этом только точное определение вида гриба способствует персонализации и успешности этиологической терапии пациента [17, 18].

Вышеизложенное определяет важность диагностики дерматофитий и актуальность разработки отечественных мультиплексных ПЦР-диагностикумов, позволяющих проводить комплексные исследования для одновременного выявления широкого спектра грибов-дерматофитов и их включения в алгоритм выявления/исключения дерматомицетов.

Целью данной работы была разработка и клиническая апробация методики выявления основных клинически значимых дерматомицетов на основе метода ПЦР-РВ.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ "МНПЦДК ДЗМ") в рамках научного сотрудничества с ООО «Некстбио» в 2022-2023 гг.

Биоматериал (образцы кожи и волос**)** получали от пациентов с подозрением на поверхностный микоз кожи и ее придатков. Суммарное количество образцов кожи (кожные фрагменты, чешуйки, дебрис) и волос (фрагменты волос, волосяных фолликулов, соскобный материал кожи головы) составило 228. Исследуемый биоматериал не содержал никаких покрытий (крема и мази), брался с использованием стерильных инструментов, собирался в отдельные стерильные одноразовые полипропиленовые пробирки объёмом 1,5 мл, и в сухом виде транспортировались в диагностическую лабораторию.

Образцы тестировали с помощью микологического посева и ПЦР-РВ.

Микологический посев. Исследуемый биологический материал из пластиковых пробирок типа эппендорф аккуратно переносили шпателем в пробирки на скошенный агар в 2-3 точки на расстоянии 1-2 см. Для первичной изоляции дерматофитов использовали стандартную агаризированную среду Сабуро с гентамицином и хлорамфениколом («Biomedia»). Посевы инкубировали при 28^0 С. Появление роста дерматомицетов отмечали с 4-го по 12 день инкубации в точках посева по краям внесенного материала.

При отсутствии роста в течение 35 дней результаты культивирования считали отрицательными. Идентификацию культур подтверждали с помощью метода матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии MALDI-TOF (VITEK MS, bioMerieux SA).

Методика для экстракции и амплификации ДНК дерматофитов. Для идентификации широкого спектра грибов – дерматофитов была использована методика на основе ПЦР-РВ, разработанная ООО «Некстбио» в рамках научного сотрудничества с МНПЦДК ДЗМ.

Реагенты для экстракции ДНК дерматофитов включали специальный солевой раствор, предназначенный для частичного растворения кератин-содержащего материала и растворы для экстракции и очистки ДНК дерматофитов в присутствии частиц магнетизированного сорбента. Экстракцию проводили как в ручном режиме с использованием магнитного штатива (ООО «ИнтерлабСервис», Россия), так и на автоматической станции для экстракции нуклеиновых кислот Nexor 96 Fully Automated Nucleic Acid Extractor (Lepu Medical Technology, Китай).

В качестве мишени для идентификации дерматофитов была выбрана область внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS), в частности, ITS1, расположенного между генами 18S и 5,8S рРНК и ITS2, находящегося между генами 5,8S и 28S рРНК. Все последовательности были получены из базы данных GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) и использованы для разработки праймеров и зондов с использованием программного обеспечения Unipro UGENE v44.0 (Новосибирск).

Для проведения ПЦР в реальном времени было разработано 2 реакционные смеси. *Первая* мультиплексная ПЦР-смесь-Дерматофиты позволяющая определять виды *T. rubrum, M. canis, E. floccosum и T. mentagrophytes complex / T.tonsurans* без разделения последних. *Вторая* ПЦР-смесь - *T. tonsurans,* нацеленная на определение *T. tonsurans,* тем самым позволяющая дифференцировать вид от *T. mentagrophytes complex* в образцах.

Амплификация проводилась по универсальной программе АмплиПрайм, на приборах планшетного типа (C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96, Bio-Rad Laboratories, США).

Секвенирование и анализ данных по Сенгеру. При получении дискордантных результатов исследований двумя методами проводилось секвенирование по Сэнгеру таксон-определяющей области генов дерматофитов ITS1-ITS2 размером 680-730 пар оснований в зависимости от вида. Этап ПЦР-амплификации проводили с использованием универсальных грибных праймеров ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') и ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [19]. ПЦР-амплификацию проводили на приборе

C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) в следующих условиях: денатурация при 95 °C в течение 5 минут; 35 циклов: 94 °C — 45 с, 56 °C — 45 с и 72 °C — 1 мин; и окончательное удлинение при 72°C в течение 10 мин. Продукт ПЦР обрабатывали в 2% агарозном геле. Очистку продуктов амплификации ПЦР проводили согласно инструкции к набору реагентов для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей «Cleanup Mini» (ЗАО Евроген, Москва). Реакции секвенирования проводили в обоих направлениях с теми же праймерами, которые использовались для ПЦР-амплификации, с использованием набора для циклического секвенирования BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applide Biosystems) согласно инструкции производителя, с разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730×l DNA Analyzer (Applide Biosystems). Для анализа полученных последовательностей использовалась программа Unipro UGENE v44.0 (Новосибирск).

Статистическая обработка. Для статистического сравнения результатов и дальнейшего анализа данных использовали программное обеспечение Excel 2016. Данные были выражены в виде количества и процента для качественных переменных. Для попарного сравнения связанных (зависимых) групп по диагностическому признаку (частоты выявления дерматофитов) использовался критерий ХИ-квадрат МакНемара. Также применялся расчет U-критерия Манна-Уитни для определения зависимости количественного предела чувствительности метода микологического посева от типа исследуемого биоматериала с оценкой *p value* в интервале от <0,1 (низкий уровень достоверности различий) до <0,001 (высокий уровень достоверности различий).

Результаты. У пациентов, включенных в исследование, обратившихся в ГБУЗ "МНПЦДК ДЗМ" с жалобами, предполагалось присутствие ПМ как основного заболевания (коды МКБ B35.0, B35.4, B35.6, B36.8), а также вторично присоединённой инфекции (основной диагноз МКБ L20.8, L30.3, L40.0). Критерий включения/не включения образца в исследование определялся врачом дерматовенерологом на основе клинической картины пациента. Общая выборка обследованных пациентов составила 228 человек (100 %), из которых у 163 (71,5 %) были отобраны образцы кожи, а у остальных 65 (28,5 %) образцы волос.

Из 163 (100 %) исследованных образцов кожи с помощью ПЦР-РВ ДНК дерматофитов была обнаружена в 53 случаях (32,52 %), в то время как с помощью микологического посева - только в 24 случаях (14,72 %).

Для образцов волос распределение получилось следующим: из 65 образцов дерматомицеты были обнаружены в 15 случаях (23,08 %) с помощью ПЦР-РВ и в 9 (13,85 %) с помощью посева. В целом метод ПЦР-РВ позволил обнаружить и идентифицировать

дерматомицеты в разном типе биоматериала в 1,9 раз чаще, чем метод культур (рисунок 1).

Рисунок 1. Результаты определения грибов-дерматофитов в образцах кожи и волос

В таблице 1 представлены результаты сравнения частоты идентификации дерматофитов по видовому составу в образцах кожи и волос методами ПЦР-РВ и микологического посева.

Таблица 1. Сравнение результатов идентификации дерматофитов в разных типах биологического материала методами ПЦР-РВ и микологического посева

Исследуемые образцы		**Результаты тестирования**	
Образец	Определяемые виды дерматофитов	**ПЦР-РВ**	**Микологический посев**
Кожа n=163 (100%)	*T.rubrum*	4 (2,5%)	-
	M.canis	29 (17,8%)	17 (10,4%)
	E.floccosum	1 (0,6%)	1 (0,6%)
	T.mentagrophytes complex	3 (1,8%)	-
	T.tonsurans	16 (9,8%)	6 (3,7%)
	Не установлен	-	-
Волосы n=65 (100%)	*T.rubrum*	-	-
	M.canis	9 (13,8%)	8 (12,3%)
	E.floccosum	-	-
	T.mentagrophytes complex	-	-
	T.tonsurans	6 (9,2%)	1 (1,5%)
	Не установлен	-	-

Так, в образцах кожи было выявлены все определяемые ПЦР-системой виды, а именно *T.rubrum, M.canis, E.floccosum, T.mentagrophytes complex, T.tonsurans.* Наиболее часто выявляемые виды *M. canis и T.tonsurans* обнаруживались с помощью ПЦР-РВ соответственно в 1,7 и 2,7 раз чаще, чем методом посева. С помощью культивирования в образцах не удалось обнаружить виды *T. rubrum* и *T. mentagrophytes complex.* В образцах волос удалось обнаружить только два вида дерматофитов - *M. canis* и *T.tonsurans* как с помощью посева, так и в ПЦР-РВ. Однако частота выявляемости снова была в пользу ПЦР-РВ, а именно в 1,1 более часто для *M. canis* и в 6 раз - для *T. tonsurans.*

В нашем исследовании не было ни одного случая, где результат посева на дерматофиты был положительным при отрицательном результате ПЦР-РВ. При попарном сравнении результатов между ПЦР-РВ и микологическим посевом для образцов кожи и волос статистический анализ показал высокий уровень достоверной значимости ($p < 0,001$).

Во всех дискордантых образцах, где ДНК дерматофитов была обнаружена только с помощью ПЦР-РВ, результаты были подтверждены методом секвенирования. Для оценки таксономической принадлежности между нуклеотидной последовательностью, полученной из образцов кожи и волос, и референсной последовательностью ДНК дерматофитов использовали базу данных нуклеотидов GenBank NCBI. Анализ последовательностей подтвердил принадлежность обнаруженных ДНК видам *M.canis, T.mentagrophytes complex, T.rubrum и T.tonsurans* в образцах кожи, а также *M.canis и T.tonsurans* в образцах волос, что не удалось обнаружить с помощью посева.

Обсуждение. По результатам проведенного исследования в целом частота выявления дерматомицетов с помощью ПЦР-РВ оказалась значительно выше в сравнении с микологическим посевом, что, в свою очередь, может говорить о разной чувствительности методов. Частота выявления дерматофитов методом ПЦР-РВ превышала результаты посева в 2,2 раза для образцов кожи и в 1,7 раз для образцов волос. Самым редким видом среди выявленных дерматофитов оказался *E. flocossum*, что также согласуется с зарубежными эпидемиологическими исследованиями. Частота выделения этого вида при дерматомикозе прогрессивно снизилась в период с 1990 по 2010 г и, возможно, снижается до сих пор [20].

При анализе результатов по выявлению видов дерматофитов мы обратили внимание на то, что в образцах волос частота обнаружения *T. tonsurans* с помощью микологического была в 6 раз ниже, чем в ПЦР-РВ, а в образцах кожи разница была всего в 2,7 раз. При этом для вида *M. canis* различие было примерно одинаково, а именно в 1,7 для кожи и в 1,1 раз для волос. Мы предположили, что данное различие может быть связано с типом

поражения, характерным для видов. *M. canis* обладает типом поражения *ectothrix*, а *T. tonsurans* - *endothrix*. Возможно, артроконидии гриба *T. tonsurans* находились внутри волоса, соответственно и процент высеваемости для таких образцов был в 2,5 раза ниже, чем для образцов кожи.

Наибольшие проблемы выявления дерматофитов культуральным методом наблюдались у *T. rubrum* и *T. mentagrophytes complex,* которые в 4-х и 3-х случаях соответственно выявлялись исключительно методом ПЦР-РВ, тогда как ни одно из культуральных исследований не выявило возбудителя.

Результатом внедрения ПЦР-РВ в лабораторную практику может стать освещение реальной эпидемиологической ситуации по заболеваемости дерматофитиями в России, а также получение данных о соотношении разных видов, вызывающих микроспорию и трихофитию. Согласно данным статистического учета РФ, заболеваемость микроспорией численно превышает показатели заболеваемости трихофитией [21]. Согласно нашим результатам, число случаев микроспории также превышает число случаев трихофитии, вызванной разными видами *Trichophyton,* в 1,3 раза.

Таким образом, в данном исследовании были подтверждены результаты многочисленных исследований зарубежных коллег и показана наибольшая эффективность ПЦР-РВ относительно микологического посева для выявления дерматофитов [17, 22].

ПЦР-РВ показала себя как удобный и быстрый метод выявления дерматомицетов, который существенно сокращает время, необходимое для выявления дерматомицетов, в сравнении с культуральным методом - с 2-5 недель до 3-7 часов, что подтверждает необходимость и целесообразность его применения в клинической практике. ПЦР-РВ можно также использовать, если пациент уже получает терапию, что, в свою очередь, делает посев неподходящим диагностическим методом из-за применения антимикотических препаратов, ингибирующих рост грибов в культуре.

Заключение. Результаты проделанной работы легли в основу разработки набора реагентов и внедрения описанной выше методики в производство и в клиническую практику. Зарегистрированный набор реагентов получил название «АмплиПрайм® Дерматофиты (*Trichophyton, Epidermophyton, Microsporum*)» (ООО «НекстБио» Москва, Россия; регистрационное удостоверение № РЗН 2023/19905от 29 марта 2023 г.) и является первым российским коммерческим набором, который сочетает в себе возможность одновременного обнаружения и дифференциации широкого спектра разных видов дерматофитов непосредственно в коже и ее придатках с возможностью автоматизации и быстрой интерпретации результатов специалистами лаборатории. Внедрение ПЦР-РВ в

алгоритм лабораторного исследования повышает обоснованность диагноза ПМ и скорость принятия клинического решения.

ЛИТЕРАТУРА

1) Iorio R., Cafarchia C., Capelli G., Fasciocco D., Otranto D., Giangaspero A. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: Epidemiological aspects. Mycoses. 2007; 50:491–495. doi: 10.1111/j.1439-0507.2007. 01385.x
2) Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Zięba P. The host range of dermatophytes, it is at all possible? Phenotypic evaluation of the keratinolytic activity of Trichophyton verrucosum clinical isolates. Mycoses. 2019; 62:274–283. doi: 10.1111/myc.12876.
3) Sai B.S., Tejashree A., Veeranna S., Krishna Karthik M. Speciation and In Vitro Activity of Four Antifungal Drugs Against Clinical Isolates of Dermatophytes By E-Test Method. Int. J. Sci. Res. 2019;8 doi: 10.36106/ijsr
4) Verma S.B., Panda S., Nenoff P., Singal A., Rudramuruthy S.M., Uhrlass S., Das S., Bisherwal K., Shaw D., Vasani R. The unprecedented epidemic-like scenario of dermatophytosis in India: I. Epidemiology, risk factors and clinical features. Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. 2021; 87:154–175. doi: 10.25259/IJDVL_301_20.
5) Coulibaly O., L'Ollivier C., Piarroux R., Ranque S. Epidemiology of human dermatophytoses in Africa. Med. Mycol. 2018; 56:145–161. doi: 10.1093/mmy/myx048
6) Ресурсы и деятельность медицинских организаций дерматовенерологического профиля. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными болезнями и болезнями кожи в 2022 году: статистические материалы/ Е.Г.Котова, О.С.Кобякова, А.А.Кубанов, В.И.Стародубов и др. .-М.: ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, 2023.- 209 с
7) Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. 2-е изд., -М.: Издательство Бином, 2008.-480с.: ил.
8) Budak A, Bogusz B, Tokarczyk M, Trojanowska D. Dermatophytes isolated from superficial fungal infections in Krakow, Poland, between 1995 and 2010. Mycoses 2013; 56(4): 422–8
9) Le TK, Cohen BA. Tinea capitis: advances and a needed paradigm shift. Curr Opin Pediatr. 2021;33(4):387–391
10) Durdu M., Ilkit M., Strategies to improve the diagnosis and clinical treatment of dermatophyte infections, Expert Review of Anti-infective Therapy, 2023/21:1, 29-40()
11) Begum J., Mir N.A., Lingaraju M.C., Buyamayum B., Dev K. Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis. J. Basic Microbiol. 2020; 60:293–303

12) Liu D., Coloe S., Baird R., Pedersen J. Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. J. Med. Microbiol. 2000; 49:493–497. doi: 10.1099/0022-1317-49-6-493.

13) Arabatzis M, Bruijnesteijn van Coppenraet LES, Kuijper EJ et al. Diagnosis of common dermatophyte infections by a novel multiplex real-time polymerase chain reaction detection/identification scheme. Br J Dermatol 2007; 157:681–9.

14) Uhrlaß S, Wittig F, Koch D, et al. Halten die neuen molekularen teste – microarray und realtime-polymerasekettenreaktion – zum dermatophytennachweis das, was sie versprechen? [Do the new molecular assays–microarray and realtime polymerase chain reaction–for dermatophyte detection keep what they promise? Hautarzt. 2019;70(8):618–626.

15) Ndiaye M, Sacheli R, Diongue K, et al. Evaluation of the multiplex real-time PCR DermaGenius® assay for the detection of dermatophytes in hair samples from Senegal. J Fungi. 2021;8(1):11

16) Сергеев Ю.В., Молекулярная диагностика онихомикозов: опыт внедрения отечественной ПЦР-системы обнаружения возбудителей дерматофитии ногтей//Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2007. – N 3. - С. 17 - 24.

17) Bergmans A M.C., van der Ent M., Klaassen A. et al. Evaluation of a single-tube real-time PCR for detection and identification of 11 dermatophyte species in clinical material//Clin Microbiol Infect. - 2010. - No. 16. P. 704 - 710.; 273.

18) Dahdah M.J., Scher R.K. Onychomycosis – an overview//US Dermatol Rev. - 2006. P 1 - 4.

19) White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JL. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols. 1990; 18(1):315-22

20) Rodrigo Cruz, Laura Carvajal Frequency of Epidermophyton floccosum in isolated dermatophytea laboratory from the Region of Valparaiso, Chile. Time frame: 1990-2010. Rev Chilena Infectol.2018;35(3):262-265. doi: 10.4067/s0716-10182018000300262.

21) Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб./Росстат. - М., З-46 2021. – 171 с.

22) Lin B., Pattle N., Multiplex RT-PCR provides improved diagnosis of skin and nail dermatophyte infections compared to microscopy and culture: a laboratory study and review of the literature. Diagn Microbiol Infect Dis. 2021 Nov;101(3):115413.

РОЛЬ ДВУХЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ АБСОРБЦИОМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ САРКОПЕНИИ У ЖЕНЩИН С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

В.О. Омельченко, А.В. Старшова

Введение

Ревматоидный артрит (РА) - аутоиммунное ревматическое заболевание, характеризующееся прогрессирующей деструкцией суставов и поражением внутренних органов. РА возникает у лиц трудоспособного возраста и в течение первых 3-5 лет от начала болезни формирует стойкое снижение трудоспособности у половины пациентов [1]. Актуальной проблемой при РА является увеличение риска падений и переломов. Низкая физическая активность, хроническое воспаление, ряд используемых препаратов приводят к изменению композитного состава тела, что выражается в снижении минеральной плотности костной ткани, уменьшении мышечной ткани, перераспределении жировой ткани и формировании саркопении.

Саркопения (СП) - прогрессирующее и генерализованное заболевание скелетных мышц со снижением мышечной силы и потерей мышечной массы [2]. Поскольку СП самостоятельно может привести к переломам, падениям, слабости, инвалидности и метаболическим нарушениям, необходимо ее своевременное выявление, в том числе для дальнейшей оптимизации протоколов лечения. Ранее ведущим проявлением СП считалось снижение мышечной массы, но EWGSOP2 в 2019 году в качестве определяющего параметра саркопении выделило именно снижение мышечной силы (рисунок 1).

В качестве первого шага к выявлению лиц с высоким риском саркопении рекомендовано использовать SARC-F [3], а в для оценки мышечной силы используется ряд тестов («пятикратного вставания со стула», тест «Встань и иди» и др.). Лишь при подозрении на СП по данным этих тестов используется инструментальное исследование для подтверждения снижения мышечной массы.

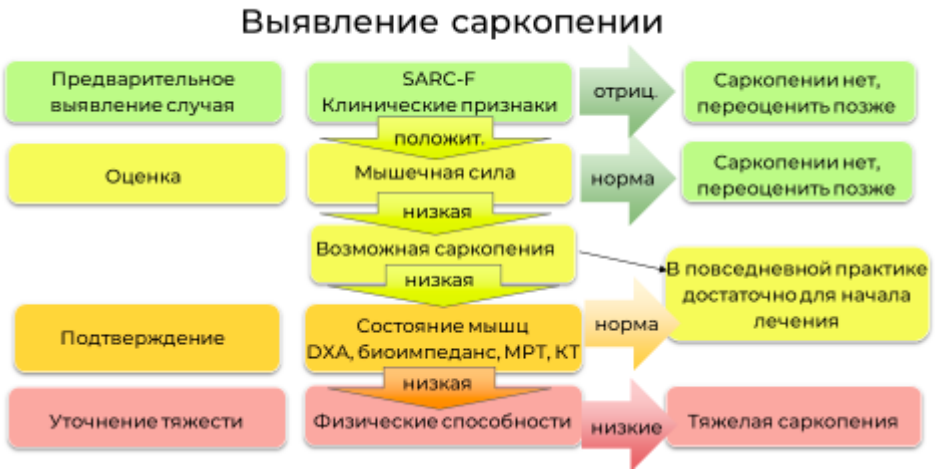


Рисунок 1. Алгоритм выявления саркопении. Адаптировано из [2].

При ревматоидном артрите данный алгоритм может неадекватно оценить наличие саркопении по причине сформированных деформаций суставов. В связи с этим, актуальной задачей является изучение роли двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA), как «золотого стандарта» в изучении композитного состава тела, в оценке формирования саркопении при ревматоидном артрите.

Цель исследования: проанализировать ассоциацию данных двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии со скрининговыми методами выявления саркопении у женщин с ревматоидным артритом.

Задачи исследования:

1. Определить частоту встречаемости саркопении по опроснику SARC-F и функциональному тесту у женщин с РА.

2. Проанализировать ассоциацию выявления саркопении по двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии с данными скрининговых методов.

Материал и методы

В поперечное контролируемое исследование включены 68 пациентов женского пола старше 18 лет. Диагноз ревматоидного артрита был установлен на основании критериев ACR/EULAR 2010. Все пациенты получали лечение в клинике НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН. Пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Медиана возраста больных РА составила 55 лет [47; 66], длительности заболевания - 12 лет [7; 19]. Менопауза ранее наступила у 46 (67,6%) больных. Серопозитивность по РФ выявлена в 93,8% случаев, по АЦЦП - в 82,5% случаев. Среди больных РА преобладали лица с низкой (50%) и умеренной (26,5%) активностью заболевания и III рентгенологической стадией по Штейнброкеру (45,6%). Пациенты с РА получали различную терапию: метотрексат (57,4%), сульфасалазин (8,8%), лефлуномид (16,2%), гидроксихлорохин (22,1%), преднизолон (27,9%). Генно-инженерные биологические препараты (ингибиторы ФНО-альфа, ритуксимаб, анти ИЛ-6) получали 45,6%.

Проводилось общеклиническое обследование больных с оценкой демографических данных, активности заболевания, рентгенологической стадии. Пациенты заполняли опросник SARC-F. Вероятная саркопения подтверждалась при результатах опросника более 3 баллов. Также, пациенты выполняли функциональный тест пятикратного вставания со стула без помощи рук. Результат фиксировался в секундах. Значение более 10 секунд принималось как снижение мышечной силы. Всем пациентам выполнена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия в режиме Total Body с оценкой содержания мышечной, жировой ткани и

минерального компонента во всем теле, конечностях, туловище в граммах и процентах. Ожирение по данным DXA определялось при уровне жировой массы более 35%. Вычислялся аппендикулярный мышечный индекс как отношение аппендикулярной мышечной массы к квадрату роста. Значение менее 5,5 кг/м^2 расценивалось как саркопения.

Для оценки исследуемых параметров была разработана и реализована база данных на основе программного обеспечения Microsoft Access 2010. Математическая обработка полученных данных проводилась в среде программы SPSS Statistics. Описание данных представлено в виде медианы, 25-го и 75-го квартильных интервалов, количества и процентного соотношения. Статистическая значимость межгрупповых отличий оценивалась с помощью критериев Манна-Уитни для независимых выборок (для количественных переменных). Для оценки различий номинальных и порядковых величин использовался критерий x2. Межгрупповые различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты исследования

Распределение результатов опросника SARC-F представлено на рисунке 2. Вероятность саркопении (число баллов более 3) по результатам опросника SARC-F у больных РА составила 52,9 %.

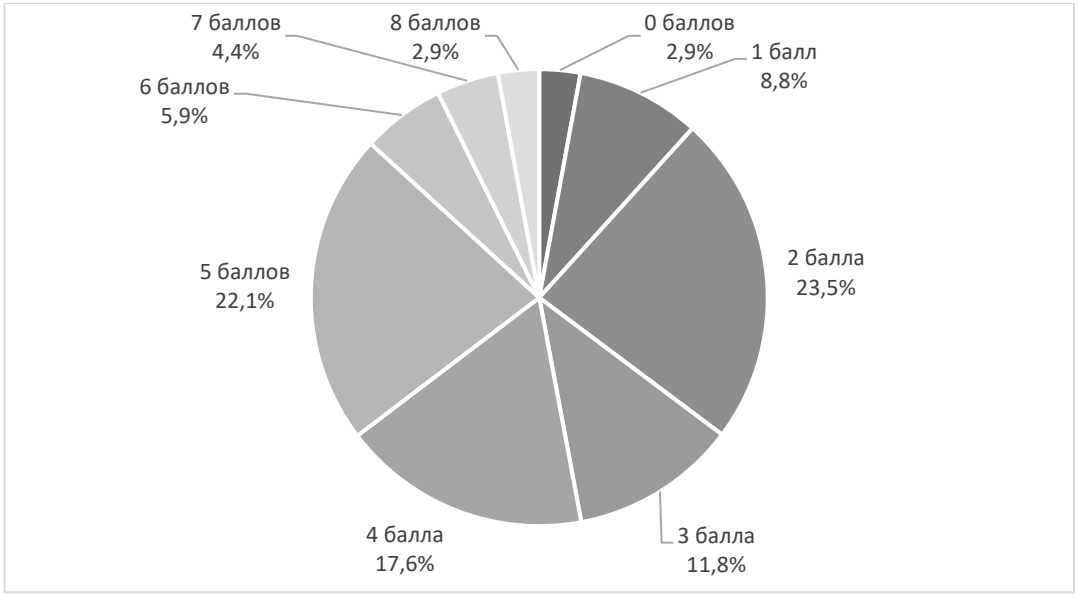


Рисунок 2. Результаты опросника SARC-F

Медиана функционального теста (пятикратное вставание со стула) составила 16,6 секунд [14,0; 20,9]. Подозрение на саркопению по тесту пятикратного вставания со стула определялось у 95,6 % в группе больных РА (Таблица 1). Помимо этого, 12 пациентов с РА (17,6%) не смогли выполнить функциональный тест по причине боли/поздних изменений в коленных суставах.

Полученные данные демонстрируют широкую распространенность функциональных ограничений у больных РА и сопоставимы с результатами других исследователей [4].

Таблица 1. Результаты опросника SARC-F и функциональные тесты у больных РА

Показатель	Значение
Подозрение на саркопению по результатам опросника SARC-F, n (%)	36 (52,9)
Тест вставания со стула, сек	16,6 [14,0; 20,9]
Подозрение на саркопению по тесту вставания со стула, n (%) в том числе, не смогли выполнить тест	65 (95,6) 12 (17,6)

Параметры композитного состава тела, определенного по DXA, представлены в таблице 2. Ожирение по результатам DXA выявили в 83,8 %, хотя по индексу массы тела, используемому в клинической практике, ожирение имелось у 21 (30,9%) пациента, что демонстрирует вероятное замещение мышц жировой тканью.

Согласно результатам инструментального исследования (DXA) саркопения у больных РА была выявлена у 12 человек (17,6 %). Медианы аппендикулярной мышечной массы и аппендикулярного мышечного индекса в группе больных РА составили 16,5 кг и 6,3 кг/м^2, соответственно.

Таблица 2. Композитный состав тела у больных РА

Параметр		Значение
Масса тела, кг		69016 [62394; 80087]
Общая жировая масса	г	29982 [21980; 36686]
	%	44,5 [36,8; 48,1]
Ожирение по DXA, n (%)		57 (83,8)
Общая мышечная масса	г	38784 [35753; 42140]
	%	55,5 [51,9; 63,2]
Жировая масса туловища	г	15494 [10846; 19190]
	%	44,9 [36,0; 50,7]
Мышечная масса туловища	г	19227 [18124; 20989]
	%	55,1 [49,3; 64,1]
Тощая масса	г	41081 [37835; 44251]
	%	56,9 [53,3; 64,5]
Аппендикулярная мышечная масса, кг		16,5 [15,2; 18,3]
Аппендикулярный мышечный индекс, кг/м^2		6,3 [5,7; 7,0]
Саркопения по DXA, n (%)		12 (17,6)
Аппендикулярная жировая масса, кг		13,3 [10,5; 16,4]
Андроидный жир, %		46,6 [35,8; 54,2]
Гиноидный жир, %		46,3 [42,8; 50,5]

Не получено значимых различий в показателях композитного состава тела у пациентов с подозрением на саркопению по SARC-F и без таковой, что может свидетельствовать о недостаточной информативности данного опросника в этой группе больных.

Больные РА с саркопенией по DXA были моложе по сравнению с больными РА без таковой (47 лет [40;50] против 58 лет [50;66], p=0,018), а также имели более низкую массу тела (63,3 кг [60,7; 64,9] против 70,8 кг [62,8; 82,0], p<0,05).

Проведен анализ ассоциации данных опросника, функционального индекса и инструментального исследования DXA. Тест вставания со стула был положительный у всех больных с подозрением на СП, а также у большей части больных без СП, что подтверждает недостаточную его информативность по причине изменений в суставах. Одновременное подтверждение саркопении выявлено только у 4 (5,9%) больных (рисунок 3).

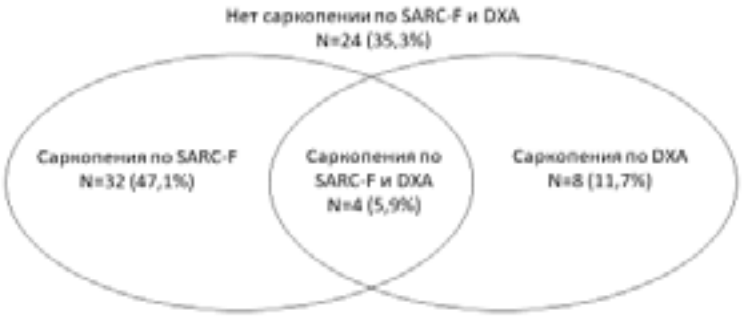


Рисунок 3. Саркопения по результатам DXA и SARC-F

В это же время, у 11,7% пациентов СП зафиксирована только по DXA, но не выявляется по опроснику, а у 47,1% больных подозрение на саркопению по SARC-F не подтверждается по результатам DXA. Подозрение на СП полностью отсутствовало у 35,3% пациентов с РА.

Выводы. Определение композитного состава тела при помощи двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии может быть полезно в оценке наличия саркопении у женщин с ревматоидным артритом, поскольку использование существующих опросников (SARC-F) и функциональных тестов может быть ограничено наличием болевого синдрома и деформаций суставов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dedmon L.E. The genetics of rheumatoid arthritis // Rheumatology. 2020. Vol. 59, № 10. P. 2661–2670.
2. Cruz-Jentoft A.J. et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis // Age Ageing. 2019. Vol. 48, № 1. P. 16–31.
3. Hanai T. et al. Utility of the SARC-F Questionnaire for Sarcopenia Screening in Patients with Chronic Liver Disease: A Multicenter Cross-Sectional Study in Japan // J. Clin. Med. 2021. Vol. 10, № 15. P. 3448.
4. Toroptsova N.V. et al. Frequency of sarcopenia and factors associated with lean mass in women with rheumatoid arthritis // Ter. Arkh. 2020. Vol. 92, № 5. P. 15–21.

РАЗРАБОТКА ПОЛНОСТЬЮ ЦИФРОВОГО ПРОТОКОЛА ПЛАНИРОВАНИЯ И РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЕМ ВНЧС

Г.Г. Осипов, А.А. Абрамянц, С.О. Чикунов, М.В. Михайлова

ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва

Резюме. Данная работа будет посвящена вопросу разработки универсального протокола диагностики и реабилитации пациентов, которым требуется комплексное стоматологическое лечение с частичным отсутствием зубов и симптомами дисфункций ВНЧС, окклюзионными проблемами и лицевыми болями при различных патологиях ВНЧС[2], а также при планировании эстетического протезирования и демонстрации пациенту прототипа будущих реставраций с учетом эстетики лица и зубных рядов (форма, текстура, цвет, пропорции) с применение полностью цифровых технологий: оптическое интраоральное сканирование, цифровая артикуляционная система, цифровой вариатор и трехмерная аддитивная печать и т.д.

Данная разработка направлена на повышение эффективности стоматологического лечения, повышение качества жизни пациента.

Ключевые слова: дисфункция ВНЧС, цифровая лицевая дуга, цифровой артикулятор, цифровой вариатор, сканируемый узел переноса, вертикальная кондилярная дистракция, сплинт-терапия, МРТ ВНЧС, дислокация суставного диска без репозиции, CAD/CAM.

Введение. На современном этапе развития стоматологической практики все большее внимание уделяется функциональным аспектам при лечении пациентов. Распространенность дисфункциональных состояний ВНЧС высока и они являются зачастую осложнением стоматологического лечения, которые было проведено без предварительной функциональной подготовки. Важность комплексного функционального подхода повышается при наличии у пациента сочетанных поражений разных структурно-функциональных элементов челюстно-лицевой области: зубные ряды, жевательная мускулатура, ВНЧС, связочный аппарат, а также при нарушениях функций, которые проявляются в виде дисфункциональных расстройств ВНЧС,

нарушения окклюзионных взаимоотношений, парафункциональной активности жевательных мышц, патологической стираемость зубов, болевого синдрома и др.

На текущий момент в стоматологии наблюдается бурное развитие цифровых технологий. Они дают возможность внедрения более эффективных протоколов лечения через автоматизацию процессов создания ортопедических, ортодонтических конструкций и сокращения аналогового протокола лечения. Например, внедрение интраоральных сканеров позволяет проводить сканирование зубных рядов и перенос пространственного положения положения верхней и нижней челюстей индивидуально у каждого пациента с достаточной точностью.

Врачи-стоматологи, занимающиеся функциональной реабилитацией используют большое количество концепций в лечении дисфункциональных состояний ВНЧС. Гнатология является самым сложным и дискутабельным разделом стоматологии. Ни одна другая медицинская дисциплина не включает в себя такое множество концепций лечения. В рамках разбора многообразия подходов можно выделить тот факт, что некоторые концепции базируются на схожих фундаментальных знаниях и исследованиях, но также наблюдается и противоречия между ними. [12] Однако, в рамках современного этапа развития стоматологической практики, они объединены тесным использованием высокотехнологичного диагностического и лечебного оборудования и набора инструментов, таких как артикуляционная система с лицевой дугой, аксиограф, CAD/CAM оборудование, электромиограф и т.д. На данном этапе развития стоматологической практики происходит вытеснение аналогового подхода цифровым с целью увеличения точности создаваемых конструкций и уменьшению времени, необходимого для всех этапов при аналоговом подходе. [3-4]

Одним из эффективных методов лечения таких патологий ВНЧС, как дислокация суставного диска с или без репозиции, компрессия суставного диска и других дисфункций - является вертикальная кондилярная дистракция путем увеличения межальвеолярного расстояния в дистальных отделах. Посредством окклюзионной сплинт-терапии удается достичь мыщелковой дистракции и увеличения вертикального размера суставного пространства на необходимую величину. Данные изменения планируются и отслеживаются под контролем МРТ диагностики в разные периоды лечения: в начале, в процессе и в конце реабилитации. Основой грамотного применения окклюзионных шин является диагностика функциональных и морфологических нарушений зубочелюстной системы.[5]

Цель работы: разработка полностью цифрового протокола лечения дисфункций ВНЧС.

Материалы и методы. В протокол реабилитации пациентов с подозрением на дисфункциональное состояние ВНЧС помимо клинического обследования входит МРТ и электромиография жевательных мышц (рис.1)[11]. Данные исследования были проведены с целью постановки верного диагноза и планирования тактики лечения. [6]

В качестве ориентира выбрана франкфуртская горизонталь - frankfurt horizontal plane (далее - FHP) ввиду ее простого нахождения при просмотре большинства исследований КТ и МРТ и возможности ее регистрации большинством прямых среднеанатомических лицевых дуг, в том числе GAMMA Dental, SAM, Bio-Art при наличии регулируемого носового упора. Как известно, FHP проходит через ориентиры: нижняя точка переднего края орбиты (Orbitalis) и верхней точки на краю костного выступа наружного слухового прохода (Porion). Оценка размера суставного пространства и визуализация суставного диска производится на основании стабильных костных ориентиров, а именно линии проведенной через точки: самую глубокую точку нижнего края глазницы — Or и верхним краем костного слухового прохода Po — что соответствует FHP (рис. 2). Данная горизонталь обозначается на срезах МРТ и проходит через суставное пространства ВНЧС. Определение величины суставного пространства производится путем обозначения линии, перпендикулярной FHP, от верхнего края суставного пространства до головки мыщелкового отростка нижней челюсти. Важность оценки данных с опорой на стабильные костный ориентир — FHP — огромна. Во первых, при оценки состояния суставных пространств ВНЧС на разных этапах лечения (в процессе, в конце) будет проводиться также по данным костным ориентирам, что будет повышать точность измерений относительно исходных величин. Во вторых, на этапе планирования реабилитации ВНЧС в каждом следующем пункте полностью цифрового протокола используется инструмент, основанный на позиционировании моделей верхней и нижней челюсти в пространство артикулятора и вариатора по FPH, так как измерительный шаблон лицевой дуги, используемый в данном протоколе ориентирован по анатомически определяемой линии Porion-Orbitale и структуры черепа. Таким образом, на каждом этапе планирования и реабилитации лечения ДВНЧС все измерения и изменения позиции челюстей происходят относительно единого стабильного костного ориентира, что позволяет из этапа в этап добиться точности переноса и снижение величины возможных отклонений.

Исходными данными для планирования вертикальной кондилярной дистрации явились размеры суставного пространства по данным МРТ. Эти данные были интерпретированы для планирования окклюзионной сплинт-терапии при помощи полностью цифрового протокола, который в себя включает: сканирование зубных дуг интраоральным сканером Primescan (Dentsply Sirona, Германия), перенос положения верхней челюсти в пространство виртуального артикулятора SAM3 (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия) при помощи сканируемого узла переноса и программного обеспечения AxioPrisa (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия) и лицевой дуги AxioQuick (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия), позиционирование трехмерных моделей челюстей в пространство артикулятора при помощи программного обеспечения AxioSnapMount (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия), синтез всех данных пациента в единую цифровую сцену и проведение вертикальной мыщелковой дистракции в при помощи виртуального вариатора Mandibular Position Variator 3 (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия) в программном обеспечения AxioComp (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия), моделирование окклюзионного сплинта по полученным данным в программном обеспечении ExoCad (Align Technology, США) и изготовление окклюзионного сплинта путем CAM фрезерования.

Первым этапом в разработанном протоколе является интраоральное сканирование зубных рядов для получения цифровых моделей пациента. Сканирование зубных дуг производится интраоральным сканером для получения двух сканов в формате STL-файлов. Далее при использовании сканируемого узла переноса AxioPrisa (переходник, позиционируемый на лицевой дуге при ее наложении для сканера) производится сканирование положения верхней челюсти с созданием STL-файла. Данное сканирование производится в верном анатомическом положении с ориентацией рамы лицевой дуги в проекции Франкфуртской горизонтали FH.

Вторым этапом является перенос цифровых моделей пациента в пространство виртуального артикулятора, путем переноса полученных трех STL-файлов (скан верхней челюсти, скан нижней челюсти, скан узла переноса положения лицевой дуги) в программное обеспечение AxioPrisa.(рис. 3) Далее производится цифровое сшивание сканов: три точки определяются и сшиваются (AxioPrisa и сканы верхней и нижней челюсти), после чего синтезированные цифровые модели отправляются в CAD модуль программного обеспечения, в котором производится позиционирование в пространство виртуального артикулятора SAM3 по средне-анатомическим параметрам.

Третьим этапом полностью цифрового протокола является перенос моделей из пространства виртуального артикулятора в аналоговый физический артикулятор. Это производится путем создания в программном обеспечении AxioSnapMount компенсационных блоков-цоколей, которые представляют из себя в физическом виде элементы артикуляционной системы SAM, полностью заменяющие использование сплит-каст адаптеров и артикуляционного гипса в процессе переноса положения моделей из виртуального артикулятора в физический. (рис. 5) В программном обеспечении AxioSnapMount в сцене позиционирования моделей в пространстве виртуального артикулятора производится генерация оптимальных блоков-цоколей и пластин, благодаря которой мы можем сократить расстояние от рамы физического артикулятора до основания. Виртуальной системой производится самостоятельный подбор оптимального блока для создания максимальной прецизионности, что позволяет уменьшить размер основания моделей, которые будут производиться путем аддитивной трехмерной печати, по технологии SLA (Stereolithography). После создания напечатанных трехмерных моделей производится их монтаж в пространство физического артикулятора с использованием блоков-цоколей и монтажных пластин из базового набора, в точном соответствии с расчетами и подбором их в программном обеспечении AxioSnapMount. Данные этап необходим как неотемлимый этап создания аналоговых моделей и позиционирование их в пространство физического артикулятора для имитации всевозможных движений нижней челюсти.

Четвертым этапом комплексного полностью цифрового планирования лечения ДВНЧС является синтез всех ранее полученных виртуальных данных пациента в единую цифровую сцену для проведение вертикальной мыщелковой дистракции в при помощи виртуального вариатора Mandibular Position Variator 3 в программном обеспечении AxioComp (рис. 4). Вариатор положения мыщелков - это устройство, позволяющее производить изменения положения мыщелков при подготовке к изготовлению окклюзионного сплинта. После переноса моделей из системы артикулятора в систему вариатора смещение можно регулировать изолированно как в вертикальной плоскости, так и горизонтальной. Планирование кондилярной дистракции производится без изменения плоскостной ориентации моделей в пространстве - рама как цифрового, так и физического вариатора SAM MPV3 ориентирована по Франкфуртской горизонтали FHP. Таким образом, полученные на первом этапе трехмерные модели пациенты и ориентирование их в пространство виртуального артикулятора на втором этапе при помощи AxioPrisa переносится в четвертый этап без изменений и погрешностей, так на

каждом из этапов имеется стабильный ориентир в виде FHP. В данном случае расчет необходимой величины вертикальной дистракции проектируется по данным о размере суставных пространств, полученных после анализа МРТ. После внесения необходимых данных в настройки виртуального вариатора в цифровом окне программного обеспечения происходит изменение положения мыщелков в режиме реального времени и появляется возможность визуальной оценки необходимого минимального расстояния между зубными рядами для изготовления окклюзионного сплинта. (рис. 12-13)

Пятым этапом полностью цифрового протокола реабилитации пациента с дисфункцией ВНЧС является перенос данных о величине вертикальной кондилярной дистракции в формате STL-файла в систему CAD/CAM и создание виртуальной модели окклюзионного сплинта с последующим фрезерованием на фрезерном станке ZIRKONZAHN. Моделирование окклюзионного сплинта производится в программном обеспечении ExoCad с соблюдением всех требований, предъявляемых к репозиционным дистракционным окклюзионным шинам - глубокие отпечатки вершин бугров зубов в определенном положении нижней челюсти. (рис. 7)

Завершается этап планирования лечения ДВНЧС фрезерованием окклюзионного сплинта и позиционированием в полости рта пациента.

Заключение. Распространенность дисфункциональных расстройств ВНЧС в последнее время становится все более широкой проблемой, и большое количество клиницистов, занимающихся функциональной стоматологией и гнатологическим лечением ищут оптимальные протоколы и подходы в лечении. [7-8]

Для достижения результата используются различные артикуляционные системы, современные программы для планирования лечения, анализ данных рентгенологических и магнитно-резонансных исследований , CAD/CAM системы, системы анализа активности мышечной активности, динамической и статической окклюзии.

Однако, существует актуальная проблема, для переноса адекватного соотношения челюстей, их пространственной ориентации в плоскостях системы координат x,y и z, точного определения срединной линии лица и окклюзионных плоскостей необходимо использовать определенные референтные точки. Это касается и аналогового использования лицевых дуг, которое является точкой проверки и коррекции при переносе соотношения челюстей в цифровой протокол.[9] В клинических случаях гнатологического лечения тотальных стоматологических реабилитаций определение референтных точек и окклюзионных плоскостей и их адекватный перенос в пространство цифрового артикулятора занимает двойное значение: анализ эстетических

параметров зубов и лица и функциональные параметры должны сопоставляться и идентифицироваться с минимально возможной погрешность, которая сводится к таковой при полностью цифровом протоколе и позволяет провести реабилитацию с минимальной коррекцией данных на этапе планирования стоматологического лечения. [10]

При использовании механических лицевых дуг процесс монтажа моделей в пространство артикулятора может происходить с погрешность и это происходит достаточно часто. Так же, как и при гипсовании моделей в артикулятор и вариатор может быть не достоверно передано пространственное положение модели и меняется расстояние между суставным механизмов аппарата и фактическим расположением мыщелков пациента. Это крайне важно для диагностики и планирования внутренних расстройств ВНЧС, создании окклюзионных сплинтов и протезировании зубных рядов.[13]

Одним из методов лечения дисфункции ВНЧС является изменение межальвеолярного расстояния окклюзионной сплинт-терапией для увеличения вертикального размера суставного пространства. Данное изменение осуществляется путем дистракции мыщелков в вертикальном направлении. Вариаторы положения мыщелков позволяют произвести расчет необходимой величины дистракции для планирования окклюзионного сплинта. Однако в процессе сканирования моделей с накусками в техническом сканере и переносе в пространство CAD модуля может возникнуть погрешность переноса или неточность позиционирования моделей.

В связи с этим возникает потребность в унификации и оптимизации данного протокола лечения, который будет включать в себя полностью цифровое решение на каждом этапе диагностики и лечения, которое позволит быстро и прогнозируемо объединить эстетические и функциональные параметры отдельно взятого пациента. Все это требует создания новых подходов к врачебной тактике при функциональном стоматологическом лечении.[14] (рис. 6)

ЛИТЕРАТУРА

1. Булычева Е.А., Чикунов С.О., Шпынова А.М., Алпатьева Ю.В. Использование ультразвукового аксиографа у больных с расстройствами жевательно-речевого аппарата // Вестник Смоленской государственной мед. академии. - 2013. - Т. 12. - № 1. - С. 33-41. [Bulycheva E.A., CHikunov S.O., SHpynova A.M., Alpat’eva YU.V. Ispol’zovanie ul’trazvukovogo aksiografa u bol’nyh s rasstrojstvami zhevatel’no-rechevogo apparata // Vestnik Smolenskoj
2. Булычева Е.А., Чикунов С.О., Трезубов В.Н., Грищенков А.С. Доказательства психического генеза гипертонии жевательных мышц. Часть IV // Институт

Стоматологии. - 2012. - № 3. - С. 36-40. [Bulycheva E.A., CHikunov S.O., Trezubov V.N., Grishchenkov A.S. Dokazatel'stva psihicheskogo geneza gipertonii zhevatel'nyh myshc. CHast' IV // Institut Stomatologii. - 2012. - № 3. - S. 36-40.]
3. Булычева Е.А., Чикунов С.О., Алпатьева Ю.В. Разработка системы восстановительной терапии больных с различными клиническими формами заболеваний височнонижнечелюстного сустава, осложненных мышечной гипертонией (III часть) // Институт Стоматологии. - 2013. - № 2. - С. 44-45. [Bulycheva E.A., CHikunov S.O., Alpat'eva YU.V. Razrabotka sistemy vosstanovitel'noj terapii bol'nyh s razlichnymi klinicheskimi formami zabolevanij visochno-nizhnechelyustnogo sustava, oslozhnennyh myshechnoj gipertoniej (III chast')
4. Чикунов С.О., Трезубов В.Н., Булычева Е.А., Алпатьева Ю.В. Щадящий способ протезирования без предварительной подготовки опорных зубов // Институт Стоматологии. - 2012. - № 2. - С. 52-53. [CHikunov S.O., Trezubov V.N., Bulycheva E.A., Alpat'eva YU.V. SHCHadyashchij sposob protezirovaniya bez predvaritel'noj podgotovki opornyh zubov // Institut Stomatologii. - 2012. - № 2. - S. 52-53.]
5. Трезубов В.Н., Алпатьева Ю.В., Булычева Е.А., Чикунов С.О., Алейник С.В. Диагностическая оценка фонетических нарушений при потере зубов и после зубного протезирования: учебное пособие. - СПб.: Человек, 2021. - 32 с. [Trezubov V.N., Alpat'eva YU.V., Bulycheva E.A., CHikunov S.O., Alejnik S.V. Diagnosticheskaya ocenka foneticheskih narushenij pri potere zubov i posle zubnogo protezirovaniya: uchebnoe posobie. - SPb.: CHelovek, 2021. - 32 s.]
6. Хватова В.А., Чикунов С.О. Окклюзионные шины: современное состояние проблемы: учебное пособие для слушателей системы послевузовского профессионального образования врачей. — М.: Миг Медицинская книга, 2010. — 56с
7. Fradeani M. Evaluation of dentolabial parameters as part of a comprehensive esthetic analysis. → Eur J Esthet Dent. 2006 Apr;1(1):62–9.
8. Gurel G, Sesma N, Calamita MA, Coachman C, Morimoto S. Influence of enamel preservation on failure rates of porcelain laminate veneers. → Int J Periodontics Restorative Dent. 2013 Jan–Feb;33(1):31–9.
9. Kois J, Kois D, Chayabutr Y. Occlusal errors generated at the maxillary incisal edge position related to discrepancies in the arbitrary horizontal axis location and to the thickness of the interocclusal record. → J Prosthet Dent. 2013 Nov;110(5):414–9
10. Becker Villamil M., Garcia E. Virtual articulator – aid simulator at diagnosis, pre-Surgical planning and monitoring of bucomaxilofacial treatment // 50th Hawaii International Conference on System Sciences 2017. P. 3506—3515.
11. Силин А.В., Ицкович И.Э., Бутова А.В. Магнитно-резонансная томография в комплексном обследовании жевательных мышц и мониторинге результатов лечения мышечно-суставной дисфункции височно-нижнечелюстных суставов // Ортодонтия. 2018. № 3. С. 18—24.
12. Хорев О.Ю., Майборода Ю.Н. Окклюзионные интерференции и нейромышечная дисфункция // Кубанский научный медицинский вестник. 2017. Т. 24. № 6. С. 161—167.
13. Schnabla D., Rottlerb A.K., Schuppb W., Boisser W., Grunert I. CBCT and MRT imaging inpatients clinically diagnosed with temporomandibular joint arthralgia // Heliyon 4 (2018) e00641.doi: 10.1016/j.heliyon.2018. e0064. http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

14. Юдин Д.К., Гетте С.А. Метод анализа параметров височно-нижнечелюстного сустава по данным магнитно-резонансной томографии. Вестник рентгенологии и радиологии. 2022; 103(4–6): 52–7. https://doi.org/10.20862/0042-4676-2022-103-4-6-52-57

Рисунки

Рис. 1. Графическое изображение электромиографический активности жевательных и височных мышц

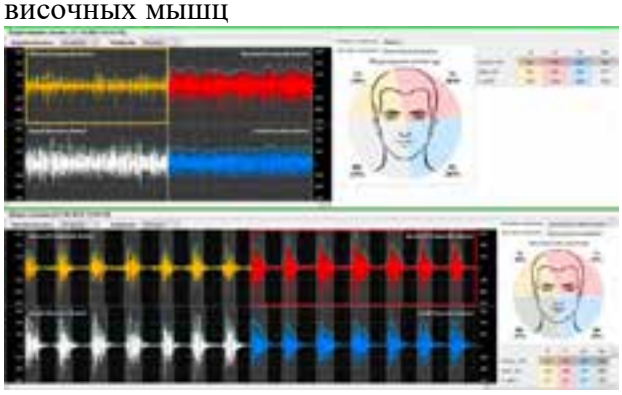


Рис. 2. Построение Франкфуртской горизонтали - FH по описанной методике для оценки величины вертикального суставного пространства по МРТ-исследованию

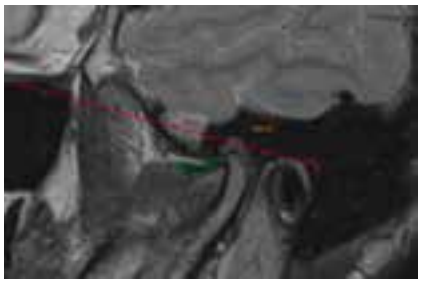


Рис. 3. Программное обеспечение AxioPrisa. Этап позиционирования в пространство виртуального артикулятора SAM3 по средне-анатомическим параметрам при помощи цифрового узла переноса AxioPrisa

Рис. 4. Программное обеспечение AxioComp (SAM Praezisionstechnik GmbH, Германия). Этап переноса исходных данных пациента и переход в режим виртуального вариатор SAM MPV3

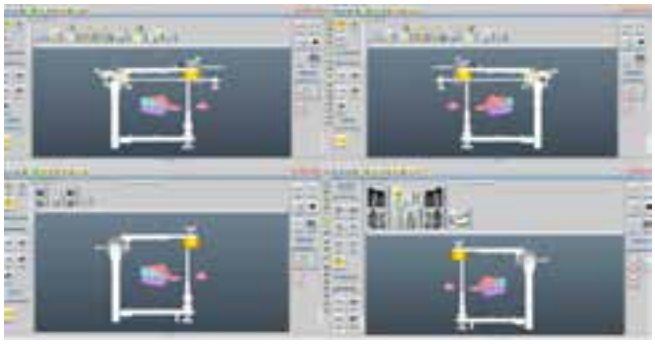


Рис. 5. Программное обеспечение AxioSnapMount (SAM). Этап генерации блоков-цоколей, позволяющих осуществить точным перенос положения моделей из виртуального артикулятора в физический

Рис. 6. Визуализация сканируемого узла переноса AxioPrisa

Рис.7. Смоделированный окклюзионный сплинт в программном обеспечении ExoCad по полностью цифровому протоколу

ЭЛАСТОГРАФИЯ КАК НЕИНВАЗИВНЫЙ МЕТОД РАННЕЙ ОЦЕНКИ ТОКСИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ В НЕКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

О.С. Пономарева[1], Д.С. Ветер[2], Ю.С. Волкова[1], В.В. Сафандеев[1]

[1]ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора

[2]«Skolkovo Vet»

В токсикологических экспериментах на лабораторных животных часто оценивают воздействие какого-либо агента химической или биологической природы. При этом, довольно часто возникает проблема получения объективных данных в эксперименте. Так, для оценки гиподинамии у животных возможно использовать тест «Открытое поле». При этом, тест не дает ответа на вопрос, каков патогенез гиподинамии. Например, при контрактурах показатели биохимии крови, как правило, находятся в пределах нормы. Следовательно, желательно иметь возможность как-то количественно определять эластичность мышц и, тем самым, выявлять поражения в опорно-двигательном аппарате. Ригидность мышц может быть оценена с помощью пальпации, измерителя твердости тканей, УЗИ- или МРТ-эластографии. Пальпация является субъективным методом, а дурометр не способен оценить свойства отдельных мышц. Использование МРТ для решения данной задачи является сложным и очень дорогостоящим методом.

Двумерная эластография – метод УЗИ, в котором используется силовой импульс акустического излучения для количественной оценки жесткости тканей. Нами было отмечено, что двумерная эластография может быть использована как инструмент для оценки жесткости дыхательных мышц у лабораторных животных с нарушенной дыхательной функцией, а также выявления острого и хронического повреждения почек. При этом, нарушения выявляются прежде, чем они обнаруживаются в крови по общепринятым маркерам. Следует отметить, что применение эластографии в современных испытательных центрах позволяет учитывать принципы 3R, т.к. не требует умерщвления животного в длительных экспериментах.

Таким образом, использование двумерной эластографии позволяет решить минимум две задачи:

1. провести раннюю неинвазивную диагностику токсических проявлений;

2. использовать его как объективный доступный метод в токсикологических исследованиях для количественной оценки состояния дыхательной системы, опорно-двигательного аппарата и оценки специфической и/или органотоксичности.

АНТОЦИАНСОДЕРЖАЩИЕ КОМПЛЕКСЫ В КОРРЕКЦИИ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА ПРИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

О.Ю. Рыбалкина[1,2*], В.Ю. Андреева[2], Е.П. Федорова[1], А.В. Чайковский[1]

[1]Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, г. Томск, Россия

[2]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия

[*] *e-mail*: olgatomsk87@gmail.com

Введение. В онкологической практике встречаются различные синдромы, патогенез которых тесно связан с развитием эндогенной интоксикации, в частности, анемический. По данным большинства исследований, на сегодняшний день анемический синдром, связан не только с развитием опухолей, но и проводимой химиотерапии у пациентов со злокачественными новообразованиями [1]. Анемия занимает второе место среди гематологических осложнений цитостатической терапии [2]. Большинство существующих фармакологических корректоров, снижающих гематотоксичность химиотерапии, обладают рядом недостатков [3,4]. Одним из перспективных направлений онкофармакологии является поиск веществ природного происхождения с целью создания на их основе новых лекарственных препаратов, снижающих токсическое действие химиотерапии на костномозговое кроветворение, в частности, эритропоэз. Наиболее интересными в этом плане являются антоцианы, содержащиеся во многих растениях. Ярким примером таких источников являются плоды аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) [5]. Согласно литературным данным, эти вещества могут снижать выраженность миелотоксичности, вызванной использованием цитостатических препаратов. Известно о противоопухолевом и антиметастатическом действии антоцианов [6]. Неоспоримым преимуществом природных веществ перед синтетическими является отсутствие токсического действия и высокая биодоступность. В настоящее время отсутствуют сведения об исследовании фармакологической активности веществ этого класса на фоне цитостатической терапии. Не обнаружено также данных о возможных механизмах антианемического действия антоцианов из плодов *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott в условиях химиотерапии. Таким образом, целью представленной работы явилось изучить влияние антоциансодержащего растительного комплекса (АСК) из плодов *Aronia melanocarpa (Michx.)* Elliot на развитие карциномы легких Льюис и эффективность химиотерапии,

оценить возможность снижения с его помощью токсичности доксорубицина на эритроидный росток кроветворения.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на конвенциональных мышах-самках линии C57Bl/6 массой 20-21 г в возрасте 3 мес. 1 категории (сертификат качества No188-05), полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга ТНИМЦ. Карциному лёгких Льюис (LLC) перевивали внутримышечно по 1 х 10^6 клеток в 0,1 мл физиологического раствора. Объектом исследования являлся АСК из плодов *A. melanocarpa (Michx.) Elliott,* синтезированные на кафедре фармацевтического анализа Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ с помощью 95% этанола, содержащего 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, методом противоточной многоступенчатой реперколяции с законченным циклом. Согласно результатам количественного определения содержания основных групп БАВ, в АСК (% на сухой остаток) входят антоцианы (5,83±0,25), флавоноиды (3,25±0,20), фенолокислоты (0,27±0,01), катехины (0,24±0,02), органические кислоты (4,70±0,40), аскорбиновая кислота (0,87±0,02). АСК деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объема дистиллированной водой и вводили мышам внутрижелудочно в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 9 сут, начиная через 24 часа после инъекции доксорубицина. Содержание антоцианов в 5 мл растительного комплекса на 95% этаноле в расчете на сухой остаток составляет 165 мг. В эксперименте использовали доксорубицин (Phizer, США), который растворяли стерильным физиологическим раствором (из ампул заводской фасовки) и вводили внутрибрюшинно животным с LLC на 10 сут после перевивки опухоли в дозе 6 мг/кг. В качестве препарата сравнения был выбран эпоэтин бета (Рекормон, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария), который вводили животным подкожно в дозе 10 Ед/мышь, начиная с 9 сут после перевивки опухоли в течение 5 сут.

Показатели периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит) определяли на 3, 5, 7 сут после инъекции цитостатика с помощью ветеринарного гематологического анализатора Mythic 18 vet («Orphee», Швейцария). На эти сроки эксперимента исследовали мазки для подсчета ретикулоцитов и клеток костного мозга, полученные стандартными гематологическими методами [7]. Исследование антианемических механизмов АСК проводили с помощью культуральных методов исследования. В конце эксперимента оценивали развитие первичного опухолевого узла и процесса метастазирования [8]. Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни (U) (Microsoft

Excel (2007) и SPSS Statistics17.0 (IBM,США)). Отличия между группами считали достоверными при $p<0.05$.

Результаты. В результате проведенного эксперимента показано, что рост карциномы легких Льюис сопровождался развитием анемического синдрома. Так на 13 и 15 сут после перевивки опухоли наблюдается снижение количества базофильных и полихроматофильных нормобластов, а также эритробластов. Отражением состояния костномозгового кроветворения явилась картина периферической крови. Так, на фоне развития LLC у животных наблюдалось достоверное снижение количества ретикулоцитов. Известно, что состояние костномозгового кроветворения во многом зависит от функциональной активности пула кроветворных клеток-предшественников, способных давать начало определенному числу зрелых специализированных клеток крови. Показано, что развитие карциномы легких Льюис приводит к увеличению содержания коммитированных клеток-предшественников в костном мозге животных, при этом индекс созревания в этой группе мышей оказался ниже относительно значения у интактного контроля. Полученные результаты свидетельствуют об ингибирующем влиянии опухоли на процесс дифференцировки клеток-предшественников эритропоэза. При изучении роли гуморальных факторов в локальном контроле процессов пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток эритропоэза установлено, что LLC приводит к усилению эритропоэтической активности (ЭПА) в супернатантах адгезирующих (13, 15 сут) и неадгезирующих (15 сут) клеток гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ). При этом ЭПА в сыворотке крови животных с опухолью не изменилась.

Введение доксорубицина в дозе 6 мг/кг мышам с LLC привело к гипоплазии костномозгового кроветворения. Так, максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалась на 5 сут: общее количество кариоцитов снизилось в 1,8 раза ($P<0,01$). Использование цитостатика привело к развитию депрессии эритроидного ростка кроветворения: на 3 сут после инъекции препарата число полихроматофильных нормобластов уменьшилось в 1,4 раза ($P<0,05$). На 5 сут отмечено достоверное снижение количества эритробластов в 1,8 раза, пронормобластов – в 1,4 раза, а также базофильных и полихроматофильных нормобластов в 1,9 и 2,0 раза соответственно. Изучение колониеобразующей способности костного мозга животных с опухолью, перенесших цитостатическое воздействие, позволило выявить ряд закономерностей. Уменьшение числа предшественников эритропоэза в кроветворной ткани животных на 3 сут после введения доксорубицина сменялось увеличением их количества к концу эксперимента, однако эти значения не достигали таковых у мышей в контрольной группе. Указанные изменения связаны, вероятно, с угнетением пролиферативной активности эритроидных прекурсоров в

ранние сроки исследования. При оценке эритропоэтической активности в супернатантах адгезирующих и неадгезирующих клеток ГИМ показано, что на 3 сут после введения антибластомного препарата наблюдается усиление ЭПА неприлипающей фракции. Однако, наряду с описанным действием, в сыворотке периферической крови отмечено угнетение ЭПА под воздействием доксорубицина.

Добавление в схему химиотерапии рекормона привело к восстановлению эритроидного ростка кроветворения, угнетенного цитостатиком. Отмечено повышение количества эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов относительно этих показателей у мышей, получавших только цитостатик. На 5 и 7 сут после инъекции доксорубицина наблюдался рост числа пронормобластов в 2,0 и 2,1 раза ($P<0,05$) соответственно. При изучении колониеобразующей способности костного мозга показано возрастание выхода КОЕ-Э на 5 и 7 сут после инъекции химиотерапевтического агента: их количество увеличилось в 2,6 и 1,7 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших один доксорубицин. Комбинированное использование референс-препарата с цитостатиком не изменило интенсивность дифференцировки. Оценка эритропоэтической активности кондиционных сред и сыворотки показала усиление продукция ЭПА после инъекции антибластомного препарата совместно с рекормоном.

При использовании антоциансодержащего комплекса из *Arónia melanocárpa (Michx.) Elliott* на фоне введения доксорубицина наблюдалась ускоренная регенерация костномозгового кроветворения. Во все сроки эксперимента отмечалось повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с показателем в получавшей цитостатик группе. Содержание эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге в группе мышей, получавших растительный комплекс, на 3-7 сут превосходило значения в группе получавших доксорубицин животных, достигая максимальной разницы на 5 сут эксперимента. На 5 и 7 сут после использования доксорубицина отмечено увеличение числа пронормобластов в 1,9 и 1,7 раза соответственно ($P<0,05$). Кроме того, в эти сроки исследования наблюдалось достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 2,6 и 1,7 раза. При изучении ЭПА кондиционных сред отмечено, что на 3 и 5 сут после инъекции цитостатика совместно с растительным комплексом усиливается продукция эритропоэтической активности неадгезирующими клетками костного мозга. На 7 сут отмечена стимуляция продукции ЭПА адгезирующими клетками костного мозга у мышей с карциномой легких Льюис, получавших АСК совместно с доксорубицином. Таким образом, проведенный эксперимент показал наличие у антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa (Michx.) Elliott* способности преимущественно стимулировать процессы регенетрации костномозгового эритропоэза, подавленного докосорубицином.

Механизм действия АСК предположительно связан с его стимулирующим влиянием на синтез клетками микроокружения гуморальных факторов.

Важным обстоятельством при назначении препаратов-корректоров пациентам со злокачественными новообразованиями на фоне химиотерапии является их влияние на противоопухолевую и антиметастатическую эффективность цитостатиков. При изучении влияния АСК на эффективность проводимой химиотерапии показано, что его назначение не изменило ингибирующего влияния цитостатика на рост первичной опухоли, при этом существенно повысило противометастатическое действие доксорубицина.

Выводы. Совокупность полученных результатов позволяет говорить о том, что антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott является перспективным сырьевым источником для создания препарата-корректора, снижающего риск развития анемии, вызванной химиотерапией при развитии злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ларионова В.Б., Крысанов И.С., Снеговой А.В. и др. Рациональная тактика поддерживающей терапии анемии, индуцированной химиотерапией: фармако-экономический анализ применения эритропоэз-стимулирующих препаратов у пациентов с онкологическими заболеваниями в условиях здравоохранения Российской Федерации // Онкогематология. – 2018. – N 13(2). – С. 48–61.
2. Dandavate N, Gadkari N, Rajbhoj A, Patil M, Gaikwad N, Bankar A. Study of anemia in non-luminal solid tumors. // Int J Adv Med. – 2023. – N 10. – P. 563-568.
3. Dangsuwan P., Manchana T. Blood transfusion reduction with intravenous iron in gynecologic cancer patients receiving chemotherapy // Gynecol. Oncol. – 2010. – Vol. 116, N 3. – P. 522-525.
4. Brasky T.M., White E., Chen C.L. Long-term, Supplemental, One-Carbon Metabolism-Related Vitamin B Use in Relation to Lung Cancer Risk in the Vitamins and Lifestyle (VITAL) Cohort // J. Clin. Oncol. – 2017. – Vol. 35. – P. 3440-3448.
5. Sarv V., Venskutonis P.R., Bhat R. 2020. The Sorbus spp.-Underutilised Plants for Foods and Nutraceuticals: Review on Polyphenolic Phytochemicals and Antioxidant Potential // Antioxidants (Basel). – 2020. – Vol. 9, N 9. P. 813. doi: 10.3390/antiox9090813.
6. Chen X.Y., Zhou J., Luo L.P. et al. 2015 Black rice anthocyanins suppress metastasis of breast cancer cells by targeting RAS/RAF/MAPK pathway. // Biomed Res Int. – 2015. N 3. –P. 1–11.
7. Гольдберг, Е.Д. Методы культуры ткани в гематологии / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.П. Шахов. – Томск: Изд-во Томского Университета, 1992. – 264 с.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – 944 с.

РАЗРАБОТКА КОЖНОГО ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-COV-2 IN VIVO

Т.В. Савин

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Введение

COVID-19 - острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2, приводящая к развитию пневмонии, поражению сердечно-сосудистой системы и других органов, с высоким риском смерти, особенно у пожилых людей. Благодаря быстрой разработке вакцин против новой коронавирусной инфекции удалось предотвратить большое число летальных исходов заболевания [1]. Однако, поскольку до сих пор в массовом доступе нет ни одного этиотропного лекарственного препарата против SARS-CoV-2, можно считать, что все случаи выздоровления заболевших связаны исключительно с активностью иммунной системы организма, стимуляция которой с неизбежностью осуществляется непосредственно вирусом или вакцинным препаратом, имитирующим «живой» вирус или его иммуногенные компоненты.

Оценка уровня иммунитета, выработанного против SARS-CoV-2, важна для коррекции лечения больных, мониторинга результатов противокоронавирусной вакцинации, обоснования необходимости ревакцинации и надзора за выработанным «коллективным» иммунитетом к коронавирусу. До сих пор измерение уровня иммунитета было сосредоточено на использовании тестов для обнаружения сывороточных антител класса A, M и G. Известно, что иммунитет к определенным патогенам опосредуется как Т-клетками, так и антителами. Причем антитела играют ведущую роль в борьбе с патогенными бактериями, но лишь вспомогательную роль - в борьбе с вирусами. Ведущая роль в борьбе с вирусами принадлежит CD8+ цитотоксическим Т-лимфоцитам (CTL) и CD4+ Т-хелперам 1-го типа (Thl). Т-клетки играют важную роль в выведении патогена из организма, а Т-клеточный иммунитет может сохраняться годами или даже десятилетиями [2].

Основная проблема оценки специфических Т-клеток заключается в том, что вирус-специфические Т-клетки трудно определить с помощью лабораторных тестов. Хотя антитела играют лишь вспомогательную роль в защите от вирусов, их легче измерить в анализах крови,

что активно используется для оценки иммунитета к SARS-CoV-2. Однако гуморальный ответ является временным и обычно затухает через шесть-девять месяцев после заражения [3]. Измерение 1 -клеточного ответа на SARS-CoV-2 дает медицинским работникам информацию о том, есть ли у конкретного пациента иммунитет к коронавирусу SARS-CoV-2, а также должностным лицам органов здравоохранения о том, сколько людей были реально инфицированы SARS-CoV-2 и сколько из них успешно выздоровели, а также о доле людей успешно или безуспешно вакцинированных. Кроме того, некоторые люди, по-видимому, реагируют на воздействие или инфекцию SARS-CoV-2 путем усиления Т-клеточного ответа без продукции антител [4].

Типичные методы определения Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 требуют дорогостоящей, многоэтапной подготовки проб и стимуляции Т-клеток in vitro клеток с использованием внутрицитоплазматического флуоресцентного окрашивания цитокинов (в частности, интерферона-гамма, ZFNy) с помощью мультипараметрической проточной цитометрии, которые еще не стандартизированы и проводятся в высокоспециализированных лабораторий. Альтернативой данному лабораторному методу является проведение кожной пробы для использования классической реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), который используется для диагностики туберкулеза около 120 лет назад [5]. Кожная проба ГЗТ не требует специальных методик и предназначена для проведения в условиях процедурного кабинета.

Препарат КоронаДерм-PS разработан для оценки Т-клеточного иммунитета, который представляет собой стерильный изотонический раствор для внутрикожного введения, содержащий рекомбинантный гибридный белок, включающий участки структурных белков 8, M, N, E коронавируса SARS-CoV-2, продуцируемый генетически модифицируемой культурой клеток штамма Escherichia coli BL21. На основе медицинских потребностей, с учетом данных по всему миру, в структуру антигена были включены иммуногенные участки структурных белков S, M и E коронавируса, а также N белок целиком. Такой выбор участков антигенов белков S, M и E обоснован данными по их иммуногенности. N белок включен целиком, исходя из данных о том, что именно на него вырабатывается стойкий Т-клеточный иммунный ответ [6]. Специфическая активность созданного химерного антигена была исследована в тесте активации Т-лимфоцитов в культуре, оцененной по способности продуцировать интерферон гамма при анализе методом цитофлюориметрии [7].

Препарат предназначен для оценки Т-клеточного иммунитета с помощью кожной пробы взамен теста на продукцию IFNy Т-клетками периферической крови в условиях in vitro.

Проведенные доклинические исследования свидетельствуют о безопасности разработанного препарата для животных и его пригодности для тестирования наличия

гиперчувствительности замедленного типа у сенсибилизированных коронавирусным аллергеном животных [8]. Это послужило основанием для проведения I и II фазы клинических исследований с целью оценки безопасности препарата, а также его специфической активности.

Цель исследования

Целью исследования являлось изучение показателей безопасности и реактогенности, а также оценка специфической активности препарата «КоронаДерм-PS» в рамках проводимого клинического исследования.

Задачи исследования

Задачи исследования соответствовали стадиям клинического исследования:

Фаза I:

- оценка безопасности и переносимости препарата «КоронаДерм-PS» при однократном внутрикожном введении здоровым добровольцам, ранее не болевшим COVII)- 19 и не вакцинированным от COVID-19;

Фаза II:

- оценка безопасности и реактогенности препарата «КоронаДерм-PS» при однократном внутрикожном введении здоровым добровольцам.

- определение специфической активности препарата «КоронаДерм-PS» в дозе 0,2 мл при внутрикожном введении в сравнении с плацебо добровольцам четырех испытуемых групп (группа 1 - прошедшие вакцинацию «ЭпиВакКорона»; группа 2 - прошедшие вакцинацию «Гам-КОВИД-Вак»; группа 3 - прошедшие вакцинацию «КовиВак»; группа 4 - перенесшие инфекцию COVID-19, но не вакцинированные) и добровольцам контрольной группы (группа 5 - не переболевшие COVID-19 и не вакцинированные);

- Сравнение результатов оценки наличия иммунитета по кожной пробе и по количеству Т-клеток периферической крови, продуцирующих IFNγ в условиях ex vivo в ответ на препарат «КоронаДерм-PS» у добровольцев 1-й, 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп.

Материалы и методы

Клиническое исследование проводилось согласно протоколу CD-PS-01/21 (разрешение министерства здравоохранения Российской Федерации №90 от 10 февраля 2022) и в соответствии с принятыми нормами и правилами проведения клинических исследований. Клиническое исследование проводилось в отделение клинических испытаний Федерального бюджетного учреждения науки «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья».

Всего в рамках I-II фазы клинического исследования 325 добровольцев (42,5% мужчины, 57,5% женщины, средний возраст добровольцев составил 42,36±15,95 лет, возрастной интервал - 18-92 лет) прошли этап скрининга, из них включено в исследование 289 добровольцев (42,2% мужчины, 57,8% женщины, средний возраст составил 43,18±15,951 лет, возрастной интервал - 18-92 лет), соответствующие критериям включения в исследование и не имеющие критериев невключения в исследование, согласно протоколу клинического исследования.

На первой фазе исследования процедуру скрининга прошли 28 добровольцев. В исследование по результатам скрининга были включены 20 волонтеров, ранее не переносивших новую коронавирусную инфекцию и не вакцинированные против нее. На фазе I исследования распределения добровольцев на группе не проводилось. На фазе I маскировка данных не проводилась.

На второй фазе исследования процедуру скрининга прошли 297 добровольцев. В исследование по результатам скрининга были включены 269 волонтеров, соответствующим критерия включения.

На фазе II испытуемые добровольцы, отобранные по критериям включения и невключения, были разделены на пять групп:

Группа 1 (n=79) - внутрикожное введение КоронаДерм-PS в дозе 0,2 мл лицам, вакцинированным вакциной «ЭпиВакКорона» (Согласно Федеральному регистру граждан, вакцинированных от COVID-19);

Группа 2 (n=82) - внутрикожное введение КоронаДерм-PS в дозе 0,2 мл лицам, вакцинированным вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Согласно Федеральному регистру граждан, вакцинированных от COVID-19);

Группа 3 (n=25) - внутрикожное введение препарата КоронаДерм-PS в дозе 0,2 мл лицам, вакцинированным вакциной «КовиВак» (Согласно Федеральному регистру граждан, вакцинированных от COVID-19);

Группа 4 (n=80) - внутрикожное введение препарата КоронаДерм-PS в дозе 0,2 мл лицам, перенесшим инфекцию COVID-19 (т е. имеющих эпидемиологический номер в базе данных Роспотребнадзора), но не вакцинированным от COVID-19 (т е. отсутствует запись в Федеральном регистре граждан, вакцинированных от COVID-19);

Группа 5 (n=23) - внутрикожное введение препарата КоронаДерм-PS в дозе 0,2 мл лицам, не переносившим инфекцию COVID-19 (т е. с отсутствием эпидемиологического номера в базе данных Роспотребнадзора) и не вакцинированным от COVID-19 (те. отсутствует запись в Федеральном регистре граждан, вакцинированных от COVID-19).

На фазе II пациенту одномоментно вводился Препарат №1 («КоронаДерм-PS») и Препарат № 2 (Натрия хлорид буфус растворитель для приготовления лекарственных форм для инъекций 0,9 %). Препараты набирались в шприцы таким образом, в результате чего добровольцы не могли знать место введения исследуемого препарата и плацебо.

Максимальный срок участия для каждого добровольца в исследовании как фазы I, так и фазы II составлял 13 дней:

- период скрининга (Визит 0) - до 7 суток;
- амбулаторное наблюдение - 6 суток.

В случае если у добровольца отмечались непредвиденные нежелательные реакции, по особому запросу медицинского монитора добровольцу предлагалось оставаться под наблюдением врача-исследователя до полного выздоровления или стабилизации состояния.

Для оценки безопасности и переносимости препарата «КоронаДерм-PS» на первом этапе (фаза I) исследование проводилось в одной группе и без кодирования препарата. Данный дизайн позволил в полной мере оценить безопасность препарата, его переносимость, что позволило перейти ко второму этапу (фаза II) исследования. Фаза II представляла собой простое слепое плацебо-контролируемое исследование, направленное на оценку безопасности и реактогенности исследуемого препарата, а также его специфической активности у лиц, вакцинированных различными вакцинами и у перенесших коронавирусную инфекцию в сравнении с добровольцами, ранее не переносившими инфекцию COVID-19 и не вакцинированным от COVID-19, а также Т-клеточного иммунного ответа на специфические антигены SARS-CoV-2 у добровольцев. Данный дизайн позволяет снизить риск ложных местных и системных НЯ благодаря применению одновременно с ИП плацебо, а также получить более точную информацию о переносимости препарата «КоронаДерм-PS».

Лабораторные и инструментальные методы обследования

Клинический анализ крови

Каждому добровольцу следующие показатели: количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина, лейкоцитарная формула аппаратным методом на анализаторе Horiba ABX Pentra 60. Скорость оседания эритроцитов определялась по методу Панченкова.

Биохимический анализ крови

Были определены следующие показатели: активность ферментов аланинтрансаминазы, аспартатрансаминазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, холестерин, общий белок, общий билирубин, глюкоза, креатинин, мочевина, СРБ, а также общий уровень иммуноглобулинов класса Е (IgE) на автоматическом анализаторе Furuno CA-

270 методом турбидиметрии с использованием реагентов «ДиаС» производства АО «ДИАКОН-ДС».

Коагулограмма

Определение показателей свертывающей системы крови (МНО, АЧТВ, фибриноген) проводилось клотинговым методом с использованием реагентов производства «НПО Ренам».

Исследование на ВИЧ, гепатит В и С

Исследование на вирус иммунодефицита человека проводилось путем опрелеления антител к ВИЧ с помощью набора реагентов для иммуноферментного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов «КомбиБест анти-ВИЧ-1+2» (АО «Вектор- Бест»), Исследование на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В и суммарных антител к вирусу гепатита С проводили хемилюминесцентным иммуноанализом с использованием «ARCHITECT» Abbott.

Общий анализ мочи

Были исследованы следующие показатели: прозрачность, цвет, удельный вес, pH, белок, глюкоза, лейкоциты, эритроциты, цилиндры, соли, слизь, эпителий, бактерии, билирубин, кетоны, нитриты, уробилиноген на автоматическом анализаторе Siemens Clinitek Status Plus методом «сухой химии».

Определение антител к SARS-CoV-2

Содержание специфических антител определялось в образцах сыворотки добровольцев с помощью Набора реагентов для иммуноферментного количественного определения антител человека класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 («N-CoV-2-IgG PS») согласно инструкции производителя (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

Определение наличия РНК SARS-CoV-2 в мазках из носоглотки (или ротоглотки)

Определение наличия и концентрации РНК SARS-CoV-2 в образцах биологических жидкостей проводили методом RT-PCR с использованием Набора регентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции в реальном времени («COVID-2019 Ашр») согласно инструкции производителя (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера). Результаты исследования интерпретировали в соответствии с инструкцией к набору.

Оценка Т-клеточного иммунитета в условиях ex vivo с помощью проточной цитометрии

Проведения оценки продукции IFN-γ CD4+ Т-лимфоцитами проводилось по согласно протоколу исследования [9]. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре NovoCyte Flow Cytometer, оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. В каждом

из образцов оценивали относительное содержание IFNγ+ клеток с фенотипом CD3+CD4+CD45RA-, результата выражали в виде % IFNγ+ лимфоцитов от общего числа Т-хелперов памяти (CD3+CD4+CD45RA-).

Флюорография

Рентгенологическое исследование легких осуществляется на этапе скрининга при отсутствии документированных данных о прохождении ФЛГ в течение 1 года до скрининга.

Тест на беременность

Тест на беременность у женщин с сохраненным репродуктивным потенциалом проводился в условиях клинического центра с помощью тест-полоски (иммунохроматографическое определение бета-хорионического гонадотропина в моче).

Электрокардиография

Стандартная ЭКГ в 12 отведениях проводилась во время Визита 0 (скрининга). Расшифровка ЭКГ производилась врачом, обладающим достаточной квалификацией, чтобы правильно расшифровать ЭКГ.

Статистическая обработка данных

Для проведения статистического анализа был использован пакет статистических программ «IBM SPSS Statistics 26» (International Business Machines Corp., Соединенные Штаты Америки).

Демографические данные и первичные параметры эффективности будут оцениваться с помощью параметрических и непараметрических методов.

Основные лабораторные показатели, полученные в ходе исследования, будут обрабатываться по правилам описательной статистики. Величины подобных показателей будут представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения или медианы и интерквартильного размаха, в зависимости от характера распределения оцениваемого признака.

Данные по безопасности оцениваются по частоте выявления нежелательных явлений. Частоты развития НЯ/СНЯ и других признаков в группах (частотный анализ) будут сравниваться с помощью критерия хи-квадрат (преимущественно) или точного критерия Фишера (если ожидаемая частота признака в одной из подгрупп менее 5. Сравнение выраженности побочных явлений (слабая, умеренная, тяжелая) между группами будет проводиться с помощью непараметрического теста Манна-Уитни.

При оценке безопасности препарата для клинико-лабораторных, биохимических и иммунобиологических показателей будут рассчитываться среднее арифметическое и его доверительный интервал с достоверностью $p<0,05$).

Результаты

В статистическую обработку включались данные, полученные от всех участников исследования, которые подверглись воздействию изучаемого препарата, независимо от степени следования протоколу в ходе исследования.

Оценка безопасности препарата «КОРОНАДЕРМ-PS»

Несмотря на то, что препарат вводился внутрикожно в минимальной дозе и не ожидается значимого проникновения в системный кровоток, введение препарата вызывало реакцию организма, которая иногда имело клиническую манифестацию. Протоколом клинического исследования предусмотрена классификация реакций на местные, системные и аллергические.

Критерии оценки местных и системных реакций

Оценка местных и системных реакций проводилась по 4-балльной шкале (Таблица №2).

Таблица №2. Оценка выраженности симптомов по 4-балльной шкале

0	отсутствует	отсутствие симптомов
1	слабая	наличие слабовыраженных симптомов
2	средняя	симптомы, заметно нарушающие нормальную ежедневную деятельность
3	сильная	симптомы, препятствующие нормальной ежедневной деятельности

Оценку температурной реакции осуществляли при подмышечном измерении по следующим категориям:

- (отсутствует)< 37 °C
- (слабая) > 37 °C - <37,5 °C
- (средняя) >37,5 °C - < 38,5 °C
- (сильная) > 38,5°C .

Связь НЯ с применением изучаемых препаратов оценивались по критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ):

Регистрация нежелательных явлений (НЯ) происходила с момента введения препарата до Визита 4 включительно на основании данных, внесённых добровольцами в индивидуальные дневники самонаблюдения, а также из устных опросов добровольцев, проведения физикального и лабораторного обследования добровольцев. Клинические симптомы, которые могли развиваться после подписания информированного согласия, но до применения исследуемого препарата регистрировались как факты анамнеза, а не как нежелательные явления.

На первом этапе (фаза I) НЯ отмечались у 12 добровольцев, всего 45 НЯ слабой (n=39, 86,7%) и средней (n=6, 13,3%) степени выраженности. При этом НЯ средней степени

выраженности имели сомнительную (п=5) и не подлежащую классификация (п=1) связь с исследуемым препаратом. Нежелательные явления слабой степени выраженности имели связь с ИН разной степени выраженности:

- Определенная (п=9)
- Вероятная (п=1)
- Возможная (п=5)
- Сомнительная (п=24)

Все НЯ отмечавшиеся на первом этапе (фаза I) исследования закончились выздоровлением/разрешением. Трем добровольцам потребовался прием лекарственных средств с целью купирования симптоматики НЯ.

На первом этапе (фаза I) НЯ, имеющие определенную (п=9), вероятную (п=1) и возможную (п=5) связь с введением препарата, были представлены «ожидаемыми» НЯ, имели слабую степень выраженности и не потребовали применения мер для купирования данных клинических проявлений. Нежелательные проявления, имевшие среднюю степень выраженности, были расценены как имеющие сомнительную или не подлежащую классификации связь с ИН. Серьезных нежелательных явлений или летальных исходов не отмечалось, НЯ, потребовавших продления периода наблюдения или внеплановых визитов в исследовательский центр, также не отмечалось. Таким образом, на фазе I исследования, была подтверждена безопасность и переносимость препарата КоронаДерм-PS у добровольцев.

На втором этапе (фаза II) НЯ у 167 добровольцев, всего 432 НЯ слабой (п=383, 88,6%), средней (п=41, 9,5%) и сильной (п=8, 1,9%) степени выраженности. Из общего числа НЯ 192 (44,4%) нежелательных явления были расценены как местные, 235 (54,4%) как системные НЯ, а 5 (1,2%) - как аллергические нежелательные явления.

Нежелательные явления слабой степени выраженности имели следующую связь с введение ИН:

•Определенная (п=156, 40,7% от общего числа НЯ слабой степени выраженности)

•Вероятная (n= 11, 2,9%)

•Возможная (п=44, 11,5%)

•Сомнительная (п= 168, 43,9%)

•Условная (n=2, 0,5%)

•Не подлежащая классификации (n=2, 0,5%)

Нежелательные явления средней степени выраженности имели следующую связь с введение ИН:

•Определенная (n=9, 21,9% от общего числа НЯ средней степени выраженности)

•Вероятная (n=3, 7,3%)

•Возможная (n=8, 19,5%)

•Сомнительная (n= 21, 51,2%)

Нежелательные явления сильной степени выраженности имели следующую связь с введение ИН:

•Определенная (n=1, 12,5% от общего числа НЯ сильной степени выраженности)

•Возможная (n=1, 12,5%)

•Сомнительная (n= 6, 75,0%)

Все НЯ отмечавшиеся на втором этапе (фаза II) исследования закончились выздоровлением/разрешением. В 93,5% случаев НЯ никаких терапевтических или диагностических мер в отношении нежелательного явления не предпринималось, клинические проявления разрешились самостоятельно в течение срока участия добровольца в клиническом исследовании.

Серьезных нежелательных явлений или летальных исходов не отмечалось. НЯ, потребовавших продления периода наблюдения или внеплановых визитов в исследовательский центр, на втором этапе (фаза II) отмечено однократно. Однако данное НЯ (хроническая рецидивирующая крапивница с неспецифической гистаминолиберацией) является хроническим состоянием, склонным к спонтанным рецидивам. В случае рецидива во время исследования провоцирующим фактором, вероятнее всего, являлось введение препарата.

Таким образом, на фазе II исследования, была подтверждена безопасность и переносимость препарата КоронаДерм-PS у добровольцев.

Оценка эффективности препарата «КОРОНАДЕРМ-PS»

Результат кожной пробы оценивался через одни сутки (24 ч ± 2 ч), через трое суток (72 ч ± 3 ч) и через шесть суток (144 ч ± 4 ч) с момента ее проведения путем измерения с помощью прозрачной линейки поперечного (по отношении к оси предплечья) размера гиперемии и инфильтрата (папулы) в миллиметрах с фиксацией изображения на цифровую камеру. Гиперемию учитывали только в случае отсутствия инфильтрата.

Кожная реакция на препарат «КоронаДерм-PS» считалась:

- отрицательной, при полном отсутствии инфильтрата и гиперемии или при наличии «у кол очной реакции»;
- сомнительной, при наличии гиперемии без инфильтрата;
- положительной, при наличии папулы любого размера и/или гиперемии.

Положительные реакции на препарат КоронаДерм-PS условно различаются по степени выраженности:

- слабо выраженная реакция, при наличии инфильтрата размером <5 мм;
- умеренно выраженная реакция, при размере инфильтрата >5 мм, ио < 10 мм;
- выраженная реакция, при размере инфильтрата >10 мм, но < 15 мм;
- гиперергическая реакция, при размере инфильтрата > 15 мм, при везикулонекротических изменениях и (или) лимфангите, лимфадените независимо от размера инфильтрата.

По результатам оценки сомнительных проб (наличие гиперемии при отсутствии папулы на визите 3) корреляции между гиперемией и индексом стимуляции продукции IFN- у CD4+ Т-лимфоцитами методом проточной цитометрии не выявлено (p=0,063484). В связи с этим, наличие гиперемии не связано с уровнем клеточного иммунитета к SARS-CoV-2, но при этом умеренно связано с уровнем гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 (p=0,391044). Исходя из полученных данных, сомнительные результаты принято считать отрицательным.

По результатам проведенного исследования было отмечено 74 отрицательных кожных реакции на введение препарата КоронаДерм-PS (из которых 45 сомнительных реакций) и 215 положительных реакций. Среди положительных реакций по степени выраженности различали:

- 40 слабо выраженная реакция (18,60% от общего числа положительных);
- 91 умеренно выраженная реакция (42,32%);
- 48 выраженных реакций (22,32%);
- 36 гиперергических реакций (16,74%).

При оценке результатов по группам:

1. Группа 1: 6 отрицательных, 12 сомнительных, 61 положительная (9 слабовыраженных реакций, 25 умеренно выраженных, 15 выраженных реакций, 12 гиперергических)
2. Группа 2: 5 отрицательных, 9 сомнительных, 68 положительная (16 слабовыраженных реакций, 34 умеренно выраженных, 13 выраженных реакций, 5 гиперергических)

3. Группа 3: 0 отрицательных, 4 сомнительных, 21 положительная (5 слабовыраженных реакций, 5 умеренно выраженных, 4 выраженных реакций, 7 гиперергических)
4. Группа 4: 2 отрицательных, 15 сомнительных, 63 положительная (11 слабовыраженных реакций, 25 умеренно выраженных, 15 выраженных реакций, 12 гиперергических)

Полученные результаты кожных реакций сравнивались с полученными показателями индекса стимуляции продукции IFN-γ CD4+ Т-лимфоцитами методом проточной цитометрии, в связи с тем, что данный метод является «золотым» стандартом в оценке специфического клеточного иммунитета ex vivo [10].

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической точности исследуемого препарата в общей выборке добровольцев получены следующие результаты: площадь под ROC-кривой - 0,795 (SE=0,048, p <0,001, 95%ДИ 0,701-0,889).

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической точности исследуемого препарата в группе 1 получены следующие результаты: площадь под ROC-кривой - 0,782 (SE=0,053, p <0,001, 95%ДИ 0,678-0,887).

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической точности исследуемого препарата в группе 2 получены следующие результаты: площадь под ROC-кривой - 0,843 (SE=0,047, p <0,001, 95%ДИ 0,751-0,935).

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической точности исследуемого препарата в группе 3 получены следующие результаты: площадь под ROC-кривой - 0,870 (SE=0,054, p <0,001, 95%ДИ 0,764-0,975).

При проведении ROC-анализа для оценки диагностической точности исследуемого препарата в группе 4 получены следующие результаты: площадь под ROC-кривой - 0,844 (SE=0,043, p <0,001, 95%ДИ 0,760-0,928).

Учитывая данные координат ROC-кривой и правила оценки кожной пробы, точкой отсечения (cut-off value) решено взять значение 1,0. Исходя из этого значения чувствительности и специфичности кожной пробы в общей выборке составили 79,8% и 80,8% соотв етств енно.

В группе 1 (вакцинированные вакциной «ЭпиВакКорона») показатели чувствительности и специфичности составили 76,6% и 80%.

В группе 2 (вакцинированные вакциной «Гам-КОВИД-Вак») показатели чувствительности и специфичности составили 81,7% и 87%.

В группе 3 (вакцинированные вакциной «КовиВак») показатели чувствительности и специфичности составили 84% и 87%.

В группе 4 (перенесшие коронавирусную инфекцию, но не вакцинированные) показатели чувствительности и специфичности составили 79,7% и 87,5%.

Обсуждение

В ходе выполнения клинического исследования каких-либо серьезных системных, аллергических и местных (связанных со способом введения лекарственного средства) НЯ не было зарегистрировано. Большинство НЯ были кратковременными, не требующими терапии и связаны с действием и способом введения препарата КоронаДерм-PS. Наиболее часто встречаемыми НЯ были: боль, зуд и гиперемия в месте введения препарата.

В ходе исследования при оценке показателей общеклинических анализов крови и мочи, биохимического анализа крови, коагулограммы, фенотипирования субпопуляций лимфоцитов, параметров витальных функций не было зарегистрировано клинически значимых отклонений от нормы, а также негативной динамики клинико-лабораторных и инструментальных или объективных параметров.

При анализе полученных данных было выявлено, что оцениваемые иммунологические показатели также не имели клинически значимых отклонений от интервала референтных значений, что является одним из показателей безопасности изучаемого препарата.

Заключение

Настоящее исследование позволило получить данные по безопасности применения препарата «КоронаДерм-PS» и его переносимости добровольцами путем оценки клинических, физикальных, лабораторных и инструментальных данных обследуемых субъектов на фоне введения препарата.

По результатам оценки эффективности препарата КоронаДерм-PS было показано, что в сравнении с показателями индекса стимуляции продукции IFN-γ CD4+ Т-лимфоцитами методом проточной цитометрии, исследуемый препарата качественной прогностической модель с довольно высокой чувствительностью (79,8%) и специфичностью (80,8%). Также показаны соответствующие (в группе 1 показатели чувствительности и специфичности составили 76,6% и 80,в группе 2 показатели чувствительности и специфичности составили 81,7% и 87%, в группе 3 показатели чувствительности и специфичности составили 84% и 87%, в группе 4 показатели чувствительности и специфичности составили 79,7% и 87,5%) результаты в различных группах добровольцев, что позволяет применять препарат «КоронаДерм-PS» среди групп населения, с различным иммунологическим анамнезом.

Исследуемый препарат показал свою безопасность с точки зрения влияния на жизненноважные функции организма, общеклинические, иммунологические и инструментальные показатели. В ходе настоящего клинического исследования при исследовании показателей клинического анализа крови, мочи, биохимического анализа крови, коагулограммы, иммунологического исследования периферической крови, физикального обследования не было зарегистрировано статистически значимых отклонений от нормы, связанных с введением препарата.

Применения препарата «КоронаДерм-PS» в рутинной практике не требует специфического оборудования и специально обученного персонала, способ введения препарата позволяет его применять массово в условиях амбулаторно-поликлинического звена. Учитывая внутрикожный путь введения препарата, вероятность развития системных аллергических реакций крайне мала

По результатам анализа данных клинического исследования можно сформулировать вывод о том, что препарата «КоронаДерм-PS» является качественной заменой лабораторных методов оценки специфического клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 для массового скрининга, а также является безопасным и характеризуется хорошей переносимостью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shao W, Chen X, Zheng C, Liu H, Wang G, Zhang B, Li Z, Zhang W. Effectiveness of COVID-19 vaccines against SARS-CoV-2 variants of concern in real-world: a literature review and meta-analysis. Emerg Microbes Infect. 2022 Dec;ll(l):2383-2392. doi: 10.1080/22221751.2022.2122582. PMID: 36069511; PMCID: PMC9542696.
2. Adamo 8, Michler I, Zurbuchen Y, Cervia C, Taeschler P, Raeber ME, Baghai Sain S, Nilsson I, Moor AE, Boyman O. Signature of long-lived memory CD8+ T cells in acute SARS-CoV-2 infection. Nature. 2022 Feb;602(7895): 148-155. doi: 10.1038/s41586-021- 04280-x. Epub 2021 Dec 7. PMID: 34875673; PMCID: PMC8810382.
3. Lin Y, Zhu I, Liu Z, Li C, Guo Y, Wang Y, Chen K. Kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection antibody responses. Front Immunol. 2022 Aug 5;13:864278. doi: 10.3389/fimmu.2022.864278. PMID: 35990623; PMCID: PMC9389018
4. Bertoletti A, Le Bert N, Tan AT. SARS-CoV-2-specific T cells in the changing landscape of the COVID-19 pandemic. Immunity. 2022 Oct 11;55(10): 1764-1778. doi: 10.1016/j.immuni.2022.08.008. Epub 2022 Aug 18. PMID: 36049482; PMCID: PMC9385766.)
5. C. Mantoux: Intradermo-reaction de la tuberculine. Comptes rendus de F Academic des sciences, Paris, 1908, 147: 355-357

6. Копать В.В., Рябченкова А.А., Чирак Е.Л., Чирак Е.Р., Саенко А.И., Колмаков Н.Н., Симбирцев А.С., Духовлинов И.В., Тотолян А.А. Разработка структуры и штамма-продуцента E. coli для антигена, содержащего последовательности белков N, 8, M, E коронавируса SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 4. ***С.*** 653-662. doi: 10.15789/2220-7619-DSA-15624

7. Копать и соавт., 2024, в печати

8. Савин и соавт., 2024, в печати

9. Matyushenko V, Isakova-Sivak I, Kudryavtsev I, Goshina A, Chistyakova A, Stepanova E, Prokopenko P, Sychev I, Rudenko L. Detection of IFNy-Secreting CD4 + and CD8 + Memory T Cells in CO VID-19 Convalescents after Stimulation of Peripheral Blood Mononuclear Cells with Live SARS-CoV-2. Viruses. 2021; 13(8): 1490. https://doi.org/10.3390/vl3081490).

10. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Stralin K, Gorin IB, Olsson A, Llewellyn-Lacey S, Kamal H, Bogdanovic G, Muschiol S, Wullimann DI, Kammann T, Emgard I, Parrot T, Folkesson E; Karolinska COVID-19 Study Group, Rooyackers O, Eriksson LI, Henter JI, Sonnerborg A, Allander T, Albert J, Nielsen M, Klingstrom J, Gredmark-Russ S, Bjorkstrom NK, Sandberg JK, Price DA, Ljunggren HG, Aleman S, Buggert M. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. Cell. 2020 Oct l;183(l):158-168.el4. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.017. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32979941; PMCID: PMC7427556.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ФИТОТЕСТИРОВАНИЮ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ПРОТИВОГОЛОЛЕДНЫХ МАТЕРИАЛОВ

А.В. Сбитнев[1*], Л.П. Сычева[2], М.А. Водянова[1], А.В. Стрелецкий[1]

ФГБЦ «ЦСП» ФМБА России, г. Москва

[2] ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва

*ASbitnev@cspmz.ru

Современные виды противогололедных материалов (далее – ПГМм), представляющие различные варианты многокомпонентных смесей химических соединений, относящихся к группе хлоридов, нитратов, формиатов и ацетатов являются сложным объектом для оценки их биологической опасности в рамках экотоксикологических исследований [1]. В частности, одними из широко используемых направлений гигиены окружающей среды является экспресс-оценка фитотоксичности химических веществ по степени изменений жизненно-важных функций высших растений, в условиях прямого контакта тест-культуры с тестируемым образцом [2]. Данный подход представляется наиболее оптимальным для оценки биологической активности ПГМм по сравнению с долгосрочными тестами, являющимися более трудоемкими и продолжительными.

Среди экспресс-методов фитотестирования ПГМм наиболее востребованным является тест на обоснование класса опасности отходов по МР 2.1.7.2297-07[1]. Однако по результатам его применения на практике отмечается высокая чувствительность тест-культуры Avena sativa к исследуемой группе веществ [2,3], что обуславливает высокую степень опасности тестируемых ПГМм. Другие эффективные методы фитотетирования ПГМм для оценки их степени опасности в настоящее время отсутствуют.

В связи с этим, одной из приоритетных задач в рамках данной области исследований является совершенствование методического подхода к фитотестированию ПГМм с целью поэтапной разработки эффективной модели экотоксикологических исследований, ориентированной на выявление и оценку степени опасности ПГМм с учетом их присутствия в объектах окружающей среды.

Целью настоящего исследования являлась апробация методического подхода к фитотестированию ПГМм с оценкой их химического состава.

[1] МР 2.1.7.2297-07. 2.1.7. Почва. Очистка населенных мест. Бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Методические рекомендации" (утв. Роспотребнадзором 10.10.2007)

Для решения поставленной цели проводились комплексные экспериментальные исследования, включающие различные методы количественного химического анализа ПГМм (далее-КХА-ПГМм) с последующей оценкой его фитотоксичности.

Фитотоксичность определяли экспресс-методом на растительной культуре- луковицах *Allium cepa* (далее-ПГМ-тест), широко-используемой для целей генотоксических и экотоксикологических исследований при тестировании потенциально опасных химических веществ [5,6].

КХА-ПГМм проводился с целью определения точного компонентного состава ПГМм и содержания химических соединений, не относящихся к основным компонентам ПГМм, но способным оказывать влияние на фитотоксическую активность ПГМм. В частности, КХА-ПГМм включал методы анализа неорганических компонентов ПГМм с помощью ионной хроматографии, которая проводилась в соответствии с методиками выполнения измерений по ФР.1.31.2008.01738 [2]и ФР.1.31.2008.01724[3], а также элементного анализа с применением метода спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой согласно ГОСТ Р 56219-2014 (ИСО 17294-2:2003)[4]. Для исследования водорастворимой части ПГМ использовался метод хромато-масс спектрометрии с предварительной твердофазной экстракцией (ТВЭ-ЖХ-МС).

ПГМм-тест основывался на сравнительной оценке фитотоксичности тестируемого ПГМм и его модельного образца (далее- ПГМм-2), содержащего аналогичное количество основных компонентов ПГМм. Используемый подход позволял на данном этапе исследований провести оценку степени изменений фитотоксической активности ПГМм, обусловленной возможным содержанием каких-либо дополнительных химических соединений.

В рамках ПГМм-теста фитотоксичность оценивали путем сравнения длины корней *Allium cepa* (далее - ДК) в опытной группе по сравнению с контрольной, фитотоксический эффект выражали в %. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 и включала описательную статистку, оценку нормальности распределения данных методом Шапиро-Уилка и с использованием параметрического критерия Стьюдента для оценки значимости отличий между сравниваемыми группами.

---

[2] ФР.1.31.2008.01738 Методика выполнения измерений массовой концентрации катионов аммония, калия, натрия, магния, кальция и стронция в пробах питьевой, минеральной, столовой, лечебно-столовой, природной и сточной воды методом ионной хроматографии

[3] ФР.1.31.2008.01724 Методика выполнения измерений массовой концентрации фторид-, хлорид-, нитрат-, фосфат- и сульфат-ионов в пробах питьевой, минеральной, столовой, лечебно-столовой, природной и сточной воды методом ионной хроматографии

[4] ГОСТ Р 56219-2014 (ИСО 17294-2:2003) Вода. Определение содержания 62 элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Тестируемым образцом ПГМм являлся твердый ПГМ, имеющий в своем составе хлористый натрий (NaCl) с массовой долей – не более 75 %, а также хлористого кальция ($CaCl_2$, с массовой долей не менее 25 %. ПГМм тестировали в виде раствора в дистиллированной воде в концентрациях: 2,5 г/л, 5 г/л 7,5 г/л, 10 г/л, 12 г/л, 14г/л, 18 г/л и 20 г/л. ПГМм-2 по аналогии ПГМм представлял собой водный раствор с соответствующим набором основных компонентов, установленных по результатам КХА-ПГМ.

Результаты КХА-ПГМ показали, что основными химическими компонентами ПГМм являются NaCl, с массовой долей 91 %, а также хлорид $CaCl_2$ с массовой долей 8,7 %. При этом, на долю таких металлов, как As, Cd, Pb, Cr, Ni, Co, Cu приходилось менее 0,001 %.

Согласно результатам предварительного исследования водорастворимого состава ПГМм методом ТВЭ-ЖХ-МС установлено, что помимо неорганической части, представленной главным образом кластерными ионами хлорида натрия и в малых количествах хлорида кальция (рисунок 1) выявлен набор пиков молекулярных ионов, которые по изотопному распределению соответствуют хлорорганическим соединениям типа $C_XH_yO_zCl_n$. Однако идентифицировать органические соединения в данном случае затруднительно, поскольку данные соединения находятся на примесном уровне и не могут быть выделены отдельно для более детального анализа. В связи с этим, можно предположить, что наличие органических соединений указывает на наличие в составе ПГМм дополнительных химических соединений, не относящихся к основным компонентам (рисунок 2).

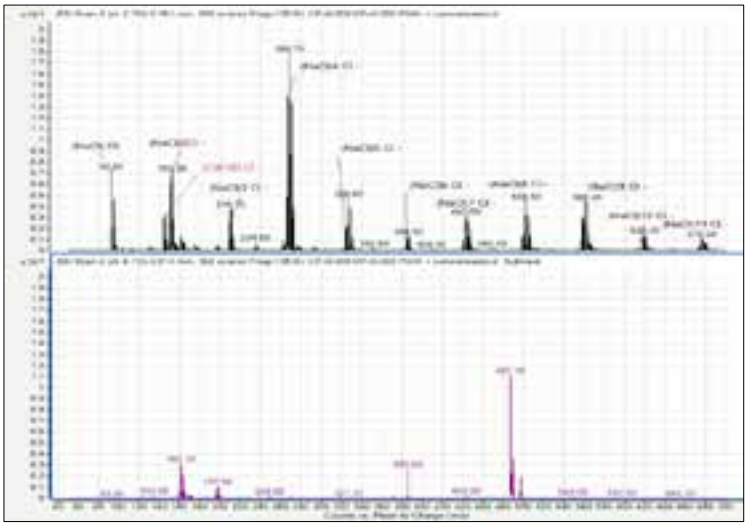


Рисунок 1. Масс-спектры отрицательных ионов отдельных фракций пробы, полученных после ТФЭ растворенной части ПГМм: верхний рисунок – соединения хлоридов натрия и кальция, нижний рисунок – предполагаемые хлорорганические соединения

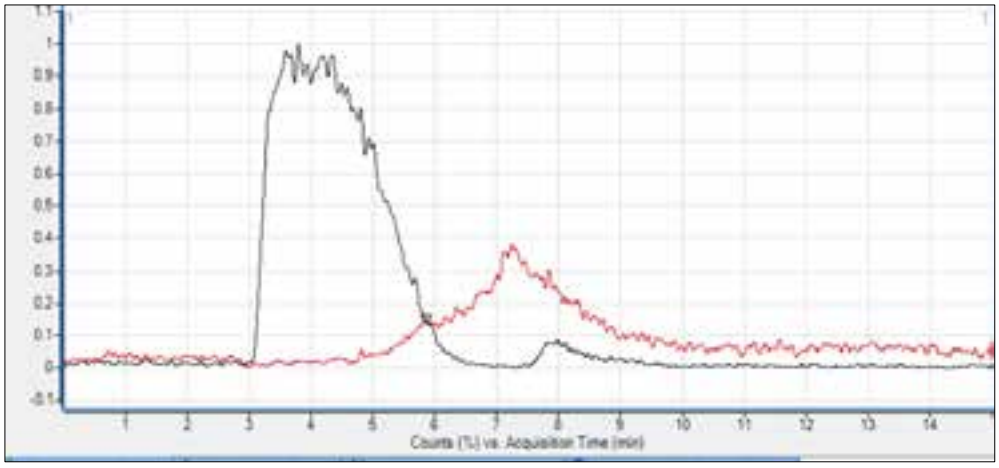


Рисунок 2. Хроматограммы выделенных ионов, соответствующих кластерам неорганических солей и хлорорганическим соединениям, полученных методом ТФЭ-ЖХ-МС

По результатам ПГМ-теста фитотоксичность статистически значимо ($p<0,01$) определялась в аналогичном интервале концентраций как для ПГМм, так и для ПГМм-2 – от 12 до 20 г/л с величинами ФЭ от 65 до 100 % для ПГМм-2 и от 57 до 100 % для ПГМм (Таблица 1). Полученные данные достоверно свидетельствовали о схожем фитотоксическом действии ПГМм и ПГМм-2. В связи с этим, основным выводом ПГМ-теста являлось подтверждение гипотезы, свидетельствующей об отсутствии различий ПГМм с его моделью ПГМм-2 по фитотоксичности.

Таблица 1. Тест-параметры и показатели фитотоксичности ПГМм и ПГМм-2 в рамках ПГМ-теста

Тест-объект	Концентрация, г/л	N, шт.	ДК, мм (M±м)	Значимость отличий, Т-критерий Стьюдента, p	ФЭ, %	отличия по ДК «-» p>0,05 «+» p<0,05
ПГМм-2	0 (контроль)	11	20,5±2,1		–	-
	2,5	9	41,1±1,7	<0,01	не обнаружен	-
	5	8	38,3±3,2	<0,01		-
	7,5	9	40,0±1,1	<0,01		+
	10	12	21,6±2,2	0,73		-
	12	9	7,2±1,2	<0,01	65,0	-
	14	10	1,6±0,2	<0,01	92,1	-
	18	13	0,3±0,2	<0,01	98,7	-
	20	10	0,0	<0,01	100,0	-
ПГМм	0 (контроль)	15	20,3±0,7		–	-
	2,5	8	36,0±1,4	<0,01	не обнаружен	-
	5	8	33,1±0,5	<0,01		-
	7,5	10	18,7±2,1	0,64		+
	10	11	17,2±1,7	0,08		-
	12	12	8,7±1,1	<0,01	57,1	-
	14	13	1,6±0,6	<0,01	92,1	-
	18	12	0,3±0,2	<0,01	96,1	-
	20	9	0,0	<0,01	100,0	-

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии потенциальной опасности ПГМм, которую можно было бы ожидать в связи с присутствием в его составе дополнительных органических соединений. Исходя из этого, можно утверждать, что фитотоксичность ПГМм определяется биологической активностью его основных компонентов, представленных в виде NaCl и $CaCl_2$. Предлагаемый в нашей модификации методический подход к фитотестированию ПГМм, предусматривающий использование КХА-ПГМм и ПГМ-теста может быть рекомендован для оценки степени опасности ПГМм как альтернативный МР 2.1.7.2297-07.

ЛИТЕРАТУРА

1. Об утверждении Регламента рассмотрения заявок производителей (поставщиков) противологоленых реагентов об изменении видов применяемых в городе Москве противологоленых реагентов и включении их в состав Технологии зимней уборки объектов дорожного хозяйства и дворовых территорий с применением противологоленых реагентов и проведения широкомосштабых испытаний противологоленых реагентов. Распоряжение ДЖКХиБ города Москвы, № 05-01-06-160/5 от 25.05.2015 г.
2. Лисовицкая О.В., Терехова В.А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению, 2010. № 1. Вып. 13. – С. 1-18.
3. Крятов И.А., Тонкопий Н.И., Водянова М.А. , Русаков Н.В., Донерьян Л.Г., Евсеева И.С., Ушаков Д.И., Матвеева И.С., Воробьева О.В., Цапкова Н.Н. Методические подходы к обоснованию гигиенических требований к применению противогололедных материалов. Гигиена и санитария. 2014. №6. С. 52-54.
4. Сбитнев А.В., Водянова М.А., Крятов И.А., Донерьян Л.Г., Евсеева И.С., Ушакова О.В., Ушаков Д.И., Матвеева И.С., Родионова О.М. Методические аспекты оценки фитотоксических свойств противогололедных реагентов. Гигиена и санитария. 2016. № 8. С. 773-778.
5. Kiełkowska, A. Cytogenetic Effect of Prolonged in vitro Exposure of Allium cepa L. Root Meristem Cells to Salt Stress Cytology and Genetics. November 2017. Volume 51. Issue 6. P 478–484
6. Пухальский В.А., Соловьев А.А., Бадаева Е.Д, Юрцев В.Н. Практикум по цитологии и цитогенетике растений. М. 2007. С. 198

НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ МОНИТОРИНГА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДОНОРСКИХ ОРГАНОВ В ПЕРИОД КОНСЕРВАЦИИ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ И ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ

А. И. Сушков

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России

Введение

Необходимыми условиями успешной трансплантации являются жизнеспособность и немедленное восстановление функции пересаженного органа. В силу того, что на сегодняшний день отсутствуют технологии длительного замещения функции печени, именно при пересадке этого органа жизнеспособность трансплантата играет ключевую роль для прогноза реципиента.

Сегодня «золотым стандартом» сохранения донорских органов от момента их изъятия до пересадки реципиенту является статическая холодовая консервация (СХК) в растворах специального состава. Недостатком метода является отсутствие какой-либо объективной информации о состоянии донорского органа в период СХК, предельная длительность которой для сердца и легких составляет 6 ч, для печени – 12 ч, для почки – 24 ч. Это не только не позволяет исключить случаи нарушения (до 25 - 30%) или первичного отсутствия (3 – 7%) функции трансплантата, но и приводит к отказу от трансплантации функционально пригодных донорских органов, на основе субъективных критериев их пригодности.

Очевидно, что наличие технологии, позволяющей оценивать жизнеспособность и прогнозировать начальную функцию донорских органов в период консервации, а оптимально – и в ранние сроки после операции, позволило бы существенно повысить безопасность и эффективность программ посмертного донорства и трансплантации органов.

В последние десятилетие основным направлением решения этой крайне актуальной проблемы стала разработка различных режимов и аппаратов для изолированной перфузии донорских органов. Результаты проведенных, в том числе клинических, исследований доказали, что использование перфузионных технологий позволяет безопасно пролонгировать предельные сроки сохранения донорских органов в условиях *ex vivo*, а также ориентируясь на динамику различных показателей судить о состоянии донорского органа, целесообразности и рисках его пересадки.

Тем не менее, такой подход имеет ряд недостатков и ограничений, связанных в первую очередь с крайне высокой стоимостью аппаратов и расходных материалов, потребностью в привлечении дополнительных высококвалифицированных сотрудников, трудностями

транспортировки из-за больших габаритов машин, рисками контаминации органа и повреждения сосудов канюлями. Частично их можно нивелировать путем за счет отказа от использования технологии в формате *up-front*, т.е. когда перфузия начинается в донорском стационаре и продолжается в процессе транспортировки, и перехода к варианту *back-to-base*, когда сохраняется в условиях СХК и только после доставки в центр трансплантации тестируется в перфузионной машине.

Другим, по нашему мнению, не менее эффективным вариантом оценки состояния донорского органа во время консервации является измерение параметров внутритканевого метаболизма глюкозы. Фундаментальной основой предлагаемого метода является ранее доказанный факт, что в условиях СХК, несмотря на гипертермию и использование консервирующего раствора метаболические процессы в донорском органе замедляются, но не останавливаются полностью. Протекающие процессы анаэробного гликолиза, гликогенолиза и деградации клеточных мембран сопровождаются изменением внутритканевых концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола, а результаты их измерения могут быть использованы для суждения о жизнеспособности органа и прогнозирования его начальной функции после трансплантации. Для получения образцов внутритканевой жидкости используется известный метод микродиализа. В отличие от перфузии данная технология может использоваться на всех этапах донорского процесса, при любом методе сохранения органа, во время трансплантации и в послеоперационном периоде.

Для проверки данной гипотезы нами было проведено клиническое исследование, целью которого стало *определение клинической целесообразности мониторинга внутритканевых концентраций глюкозы и ее метаболитов для дополнительной объективной оценки жизнеспособности и функционального состояния донорской печени до и после трансплантации человеку*.

Материалы и методы

Исследование проведено в Лаборатории новых хирургических технологий и подразделениях Центра хирургии и трансплантологии ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. Промежуточные результаты работы и описание отдельных клинических наблюдений были представлены нами ранее [1,2]. Дизайн и задачи исследования, а также принцип распределения наблюдений по группам представлены на Рисунке 1.

Для получения проб внутритканевой жидкости использовали микродиализные катетеры для печеночной ткани (61 Hepatic Microdialysis Catheter). Определение состава проб внутриканевой жидкости проводили на анализаторе ISCUS Clinical Microdialysis Analyzer с помощью наборов реактивов Reagent Set B. Все оборудование и расходные материалы

произведены CMA Microdialysis AB (Швеция) и имеют действующее на территории Российской Федерации регистрационное удостоверение на медицинское изделие № ФСЗ 2007/00697 от 28.11.2007 г.

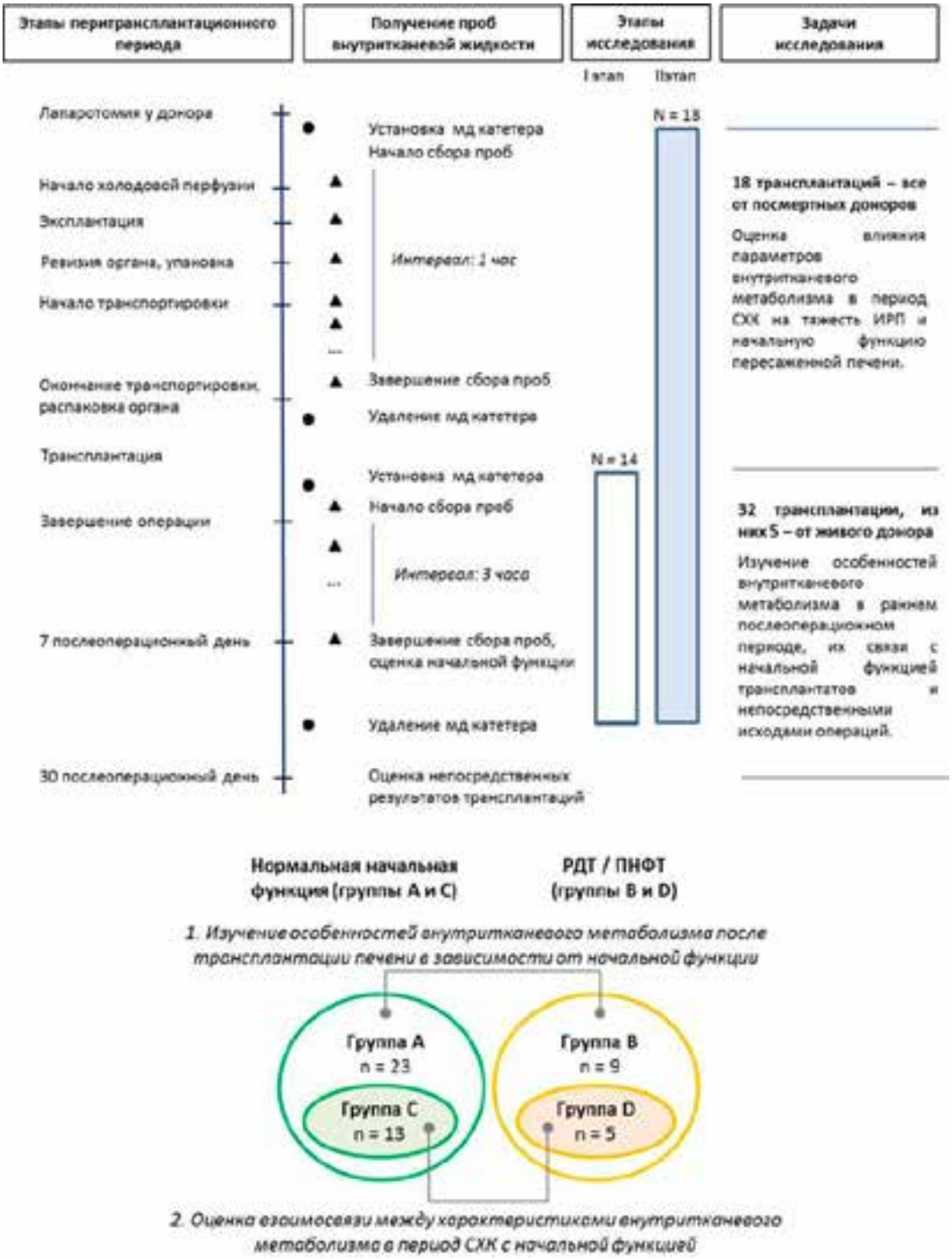


Рисунок 1. Дизайн и задачи исследования, распределения наблюдений по группам. РДТ – ранняя дисфункция трансплантата, ПНФТ – первично-нефункционирующий трансплантат.

Раннюю дисфункцию трансплантата (РДТ) диагностировали на 7-е сутки после трансплантации в соответствии общепринятыми с критериями Olthoff et al. [3].

Количественные переменные представляли в виде медианы, дополнительно указывая либо минимальное и максимальное значения, когда именно они представляли клиническую значимость, либо приводя интерквартильный интервал. Для качественных признаков указывали абсолютные частоты. Определение значимости различий по количественным и качественным переменным в двух независимых выборках проводили с использованием непараметрического двустороннего критерия Манн-Уитни и двустороннего точного критерия Фишера соответственно. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}050$. При расчете отношения шансов наступления бинарного исхода указывали также 95% доверительный интервал (95% ДИ). Для поиска граничных значений количественных параметров проводили ROC-анализ, рассчитывали показатели чувствительности и специфичности. Расчеты проводили с использованием статистического пакета программ Statistica 12 (StatSoft Inc., США).

Результаты

Основные характеристики реципиентов, доноров и операций были сопоставимы при сравнении групп А и В (Таблица 1). К исходу первых послеоперационных суток у пациентов с РДТ (группа В) отмечалось статистически значимо большая потребность в продленной ИВЛ (более 24 ч), а также более высокий показатель MELD, рассчитанный по результатам лабораторных анализов через сутки после операции.

Таблица 1. Характеристики доноров, реципиентов, особенности операций и их исходы в исследуемых группах

	Все наблюдения	**Группа А**	**Группа В**	***p (A-B)***	**Группа С**	**Группа D**	***p (C-D)***
N	32	23	9	-	13	5	-
Характеристики реципиентов, доноров, операций							
Возраст реципиента, лет	53 [43; 58]	53 [46; 60]	48 [41; 58]	0,483	53 [52; 61]	56 [39; 58]	0,703
MELD, баллы	14 [12; 17]	15 [12; 17]	13 [12; 17]	0,711	13 [11; 17]	12 [11; 13]	0,289
Посмертный донор, n	27	19	8	1,000	13	5	1,000
Длительность СХК, ч	9,0 [7,8; 11,0]	8,7 [7,8; 10,7]	10,0 [8,3; 11,0]	0,328	8,3 [8,0; 10,3]	9,0 [7,6; 11,0]	0,924
Тепловая ишемия, мин	40 [33; 45]	38 [32; 50]	45 [39; 45]	0,549	39 [33; 55]	45 [42; 45]	0,679
24 часа после трансплантации							
ИВЛ более 24 ч, n	4	0	4	**0,004**	0	1	0,278
Вазопрессорная поддержка	7	3	4	0,076	2	2	0,533
АСТ, Ед/л	736 [311; 2077]	389 [289; 811]	2728 [2213; 5254]	**<0,001**	750 [309; 908]	2728 [2098; 3284]	**<0,001**

АЛТ, Ед/л	550 [289; 1237]	419 [246; 851]	1806 [1298; 2024]	**<0,001**	599 [387; 1041]	1298 [936; 1806]	0,075
Лактат, ммоль/л	1,7 [1,2; 2,3]	1,6 [1,2; 2,1]	2,2 [1,6; 3,9]	0,074	1,7 [1,4; 2,1]	1,9 [1,9; 2,9]	0,336
7 послеоперационный день							
Острое почечное повреждение, n	12	5	7	**0,006**	0	3	**0,012**
ЗПТ, n	7	2	5	**0,010**	1	3	**0,044**
Общий билирубин, мкмоль/л	38 [21; 52]	32 [21; 50]	44 [28; 131]	0,126	36 [21; 51]	44 [28; 123]	0,441
МНО	1,12 [1,09; 1,21]	1,11 [1,08; 1,15]	1,30 [1,11; 1,49]	0,071	1,11 [1,05; 1,15]	1,30 [1,11; 1,30]	0,267
Функциониру-ющие трансплантаты, n	29	23	6	**0,017**	13	5	1,000
Исходы на 30 послеоперационный день							
Функциониру-ющие трансплантаты, n	26	22	4	**0,003**	13	4	0,278

*– снижение среднего артериального давления более чем на 30% ниже базального уровня, превышающее по длительности одну минуту и развивающееся в течение первых пяти минут после реперфузии трансплантата печени. СЗП – свежезамороженная плазма; ИВЛ – искусственная вентиляция легких; ЗПТ – заместительная почечная терапия; МНО – международное нормализованное отношение.

В течение первой послеоперационной недели было утрачено три трансплантата: на 1-е, 5-е и 7-е сутки после операции по причине ПНФТ, тромбоза печеночной артерии на фоне РДТ и прогрессирующего синдрома полиорганной недостаточности, а также тяжелой РДТ после развития в интраоперационном периоде злокачественной гипертермии. Все ранние потери трансплантатов произошли в «группе В». В течение следующих трех недель, т.е. к 30 послеоперационному дню было утрачено еще три трансплантата: два в «группе В» и один в «группе А».

В связи с тем, что наблюдения групп С и D (результаты их сравнительного анализа также приведены в Таблице 1), входили соответственно в группы А и В, то описанные выше тенденции отмечались и при их сопоставлении. В течение первой послеоперационной недели среди наблюдений групп С и D утрат трансплантатов не было. В «группе D» один трансплантат был утрачен на 26-е сутки.

Таким образом, в рассматриваемой когорте частота РДТ составила 25% (8/32), ПНФТ – 3% (1/32), к исходу первого месяца после пересадки 81% (26/32) реципиентов были живы. Из шести случаев утраты пересаженной печени в пяти наблюдениях она произошла на фоне нарушения функции пересаженной печени. Отношение шансов потери трансплантата при развитии РДТ составило 27,5 (95% ДИ: 2,5 – 302,2).

Динамика внутритканевых концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола представлена на Рисунках 2A-2D.

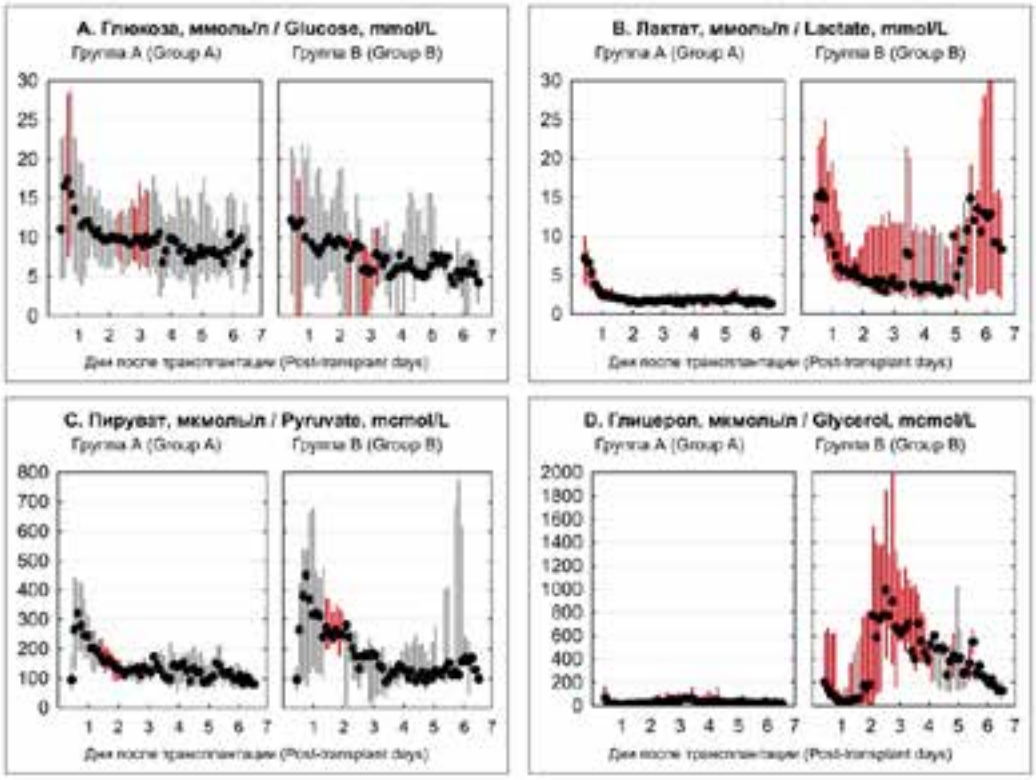


Рисунок 2. Динамика внутритканевых концентраций (A) глюкозы, (B) лактата, (C) пирувата и (D) глицерола в течение первых 7 суток после трансплантации печени. Интервал измерения – 3 часа. Черные маркеры – медиана значений параметров, вертикальные линии – их интерквартильный размах. Красным цветом указаны статистически значимые различия ($p < 0,050$).

К общим закономерностям, не зависящим от функции трансплантатов, можно отнести:

- умеренно повышенную, по сравнению с нормальными значениями для капиллярной крови, внутритканевую концентрацию глюкозы в течение первых суток, с тенденцией к снижению до 5 – 10 ммоль/л в течение2-3 послеоперационного дня;
- регистрацию максимальных уровней лактата в течение первых часов после операции и ее последующее снижение;
- рост концентрации пирувата в первые часы после операции с достижением пиковых значений через 18 – 24 ч и дальнейшим снижением до 100 – 200 мкмоль/л.

Наиболее важной особенностью динамики внутритканевых концентраций исследуемых параметров при развитии РДТ, следует считать более высокие концентрации лактата как при первом измерении (через 3 часа после реперфузии): 12,3 [10,1; 15,6] ммоль/л против 7,2 [3,9; 9,9] ммоль/л ($p = 0,003$), так и спустя 24 часа: 6,1 [4,2; 13,2] ммоль/л против 2,4 [1,7; 2,8] ммоль/л ($p <$

0,001). С последующим сохранением статистически значимых различий в течение всего периода наблюдения (Рисунок 2В).

При проведении ROC-анализа установлено пороговое значение внутритканевой концентрации лактата – 8,8 ммоль/л. Использование его для диагностики РДТ обеспечивает чувствительность – 89%, специфичность – 65% (площадь под ROC-кривой – 0,85).

Несмотря на то, что во всех наблюдениях кондиционирование посмертных доноров, операции эксплантации, консервация и транспортировка донорских органов проводилась одной хирургической командой с соблюдением единой технологии, внутритканевые концентрации исследуемых веществ на протяжении СХК варьировали в широком диапазоне значений. Универсальными тенденциями были: увеличение концентрации глюкозы, лактата и глицерола, снижение концентрации пирувата (Рисунок 3), однако, динамика изменений варьировала от наблюдения к наблюдению, поэтому каждый случай приведен в виде отдельных кривых.

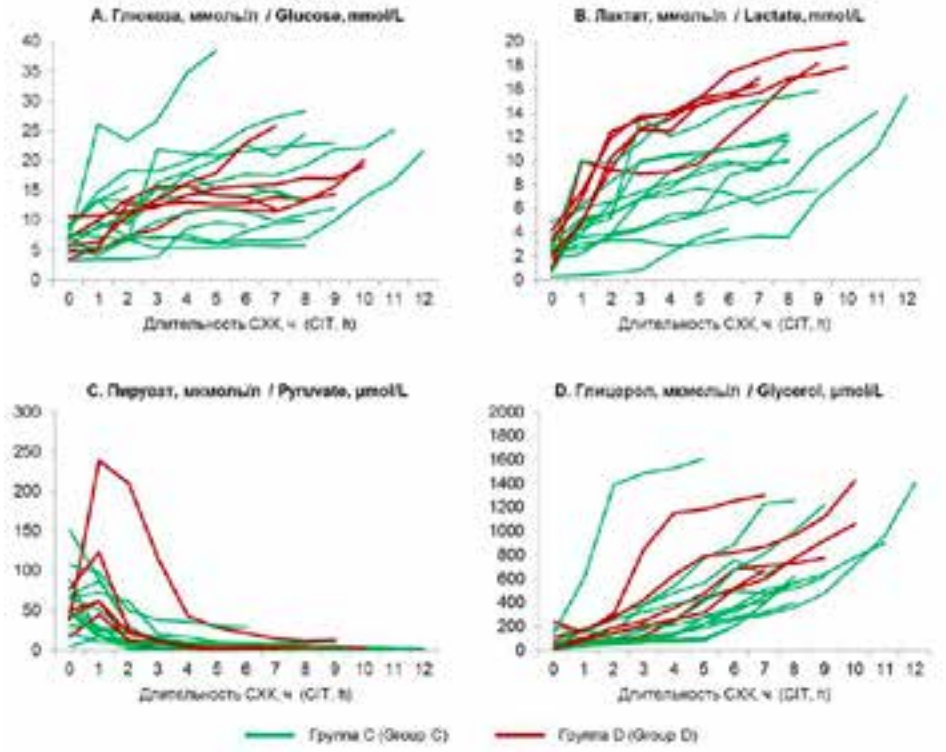


Рисунок 3. Динамика внутритканевых концентраций (A) глюкозы, (B) лактата, (C) пирувата и (D) глицерола в течение СХК. Интервал измерения – 1 час

Для идентификации возможных предтрансплантационных донорских факторов, которые могли быть ассоциированы с начальной функцией трансплантатов, был проведен дополнительный анализ. Статистически значимые различия были идентифицированы только для значений внутритканевой концентрации лактата и площади под кривой «концентрация лактата – длительность СХК». При последующем ROC-анализе были установлены граничные значения для данных параметров: 15,4 ммоль/л и 76,1 ммоль/л*ч, превышение которых с чувствительностью

100% в обоих случаях и специфичностью 77% и 85%, соответственно, могут использоваться для прогнозирования нарушения начальной функции трансплантатов.

Обсуждение

Результаты мониторинга параметров внутритканевого метаболизма в трансплантате печени в ранние сроки после пересадки, полученные нашей группой, являются первыми и в настоящее время единственными в отечественной клинической практике. Несмотря на то, что в ряде зарубежных центров использование внутритканевого микродиализа при трансплантации было начато около 15-20 лет назад, совокупное количество сделанных наблюдений не велико. В связи с этим единый взгляд на диагностическое и прогностическое значение отдельных параметров и динамики их изменений на сегодняшний день отсутствует. Тем не менее, результаты настоящего исследования не противоречат и высокой степени согласуются с ранее опубликованными работами Nowak et al. [4], Waelgaard et al. [5], Haugaa et al. [6], Silva et al. [7].

Данные о динамике концентраций глюкозы, лактата и пирувата подтверждают факт, что в условиях СХК в печени посмертного донора параллельно протекают процессы гликогенолиза и анаэробного гликолиза. А накопленная концентрация лактата обоснованно может рассматриваться в качестве предиктора первичной РДТ.

Использование одной технологиина всех этапах и при любых вариантах статического и перфузионного сохранения органов, позволяет сформулировать и предложить новую концепцию оценки их качества, прогнозирования риска тяжелой первичной РДТ и ПНФТ (Рисунок 5).

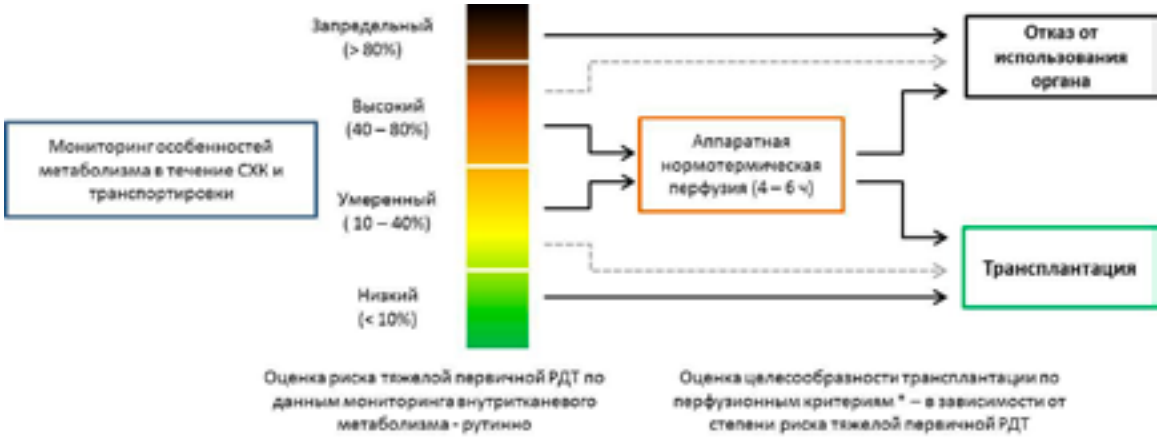


Рисунок 5. Новая концепция оценки жизнеспособности донорского органа, прогнозирования риска первичной РДТ и целесообразности его трансплантации человеку. Сплошные стрелки указывают последовательность действий при возможности клинического использования технологии нормотермической перфузии, пунктирные стрелки – при ее отсутствии. * - предполагается использование валидированных критериев, например, [8].

При этом мониторинг состояния внутритканевого метаболизма не следует рассматривать в качестве альтернативы нормотермической перфузии – оптимальным подходом является наличие в арсенале служб органного донорства и центров трансплантации обеих технологий.

Заключение

Максимально эффективное использование органов посмертных доноров подразумевает не только увеличение количества выполняемых операций, но достижение удовлетворительных непосредственных и отдаленных результатов. Статическая холодовая консервация была и остается надежным подходом для сохранения органов, главным недостатком которого является отсутствие возможности контроля их состояния. Данные зарубежных исследований, а также результаты собственной практической работы, позволяют обоснованно утверждать, что исследование параметров внутритканевого метаболизма глюкозы (главным образом – лактата) позволит решить эту проблему.

Применение внутритканевого микродиализа в раннем посттрансплантационном периоде позволяет немедленно – в течение нескольких часов после реперфузии судить о начальной начальной функции трансплантата, и, соответственно, иметь возможность корректировать план интенсивной терапии в упреждающем режиме.

Техническое совершенствование процесса получения и анализа проб внутритканевой жидкости, а также создание портативного медицинского изделия для мониторинга состояния внутритканевого метаболизма как в течение консервации, так и в послеоперационном периоде для ранней диагностики функциональных нарушений и сосудистых осложнений, по нашему мнению, определило бы возможность проведения должных по объему клинических исследований с целью установления точных диагностических и прогностических критериев и стало бы решающим фактором для последующего быстрого и масштабного внедрения технологии в клиническую практику донорства и трансплантации органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сушков А.И., Рудаков В.С., Губарев К.К., Светлакова Д.С., Артемьев А.И., Восканян С.Э. Оценка и мониторинг жизнеспособности и начальной функции пересаженной печени с помощью внутритканевого микродиализа. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2020;22(2):97-106. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-2-97-106

2. Sushkov A.I., Voskanyan S.E., Rudakov V.S., Popov M.V., Gubarev K.K., Svetlakova D.S., Artemiev A.I. Interstitial Glucose Metabolism Monitoring as an Additional Method for Objective Assessment of Donor Liver, Prediction and Immediate Diagnosis of Early Graft Dysfunction. Sovremennye tehnologii v medicine 2022; 14(3): 28, https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.04

3. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. Liver Transpl. 2010 Aug;16(8):943-9. doi: 10.1002/lt.22091. PMID: 20677285.

4. Nowak G, Ungerstedt J, Wernerman J, Ungerstedt U, Ericzon BG. Clinical experience in continuous graft monitoring with microdialysis early after liver transplantation. Br J Surg. 2002 Sep;89(9):1169-75. doi: 10.1046/j.1365-2168.2002.02187.x. PMID: 12190684.

5. Waelgaard L, Thorgersen EB, Line PD, Foss A, Mollnes TE, Tønnessen TI. Microdialysis monitoring of liver grafts by metabolic parameters, cytokine production, and complement activation. Transplantation. 2008 Oct 27;86(8):1096-103. doi: 10.1097/TP.0b013e31818775ca. PMID: 18946348.

6. Haugaa H, Almaas R, Thorgersen EB, Foss A, Line PD, Sanengen T, Bergmann GB, Ohlin P, Waelgaard L, Grindheim G, Pischke SE, Mollnes TE, Tønnessen TI. Clinical experience with microdialysis catheters in pediatric liver transplants. Liver Transpl. 2013 Mar;19(3):305-14. doi: 10.1002/lt.23578. PMID: 23193034.

7. Silva MA, Murphy N, Richards DA, Wigmore SJ, Bramhall SR, Buckels JA, Adams DH, Mirza DF. Interstitial lactic acidosis in the graft during organ harvest, cold storage, and reperfusion of human liver allografts predicts subsequent ischemia reperfusion injury. Transplantation. 2006 Jul 27;82(2):227-33. doi: 10.1097/01.tp.0000226234.76036.c1. PMID: 16858286.

8. Laing RW, Mergental H, Yap C, Kirkham A, Whilku M, Barton D, Curbishley S, Boteon YL, Neil DA, Hübscher SG, Perera MTPR, Muiesan P, Isaac J, Roberts KJ, Cilliers H, Afford SC, Mirza DF. Viability testing and transplantation of marginal livers (VITTAL) using normothermic machine perfusion: study protocol for an open-label, non-randomised, prospective, single-arm trial. BMJ Open. 2017 Nov 28;7(11):e017733. doi: 10.1136/bmjopen-2017-017733. PMID: 29183928.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИЧ И ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ

О.А. Тарасова, С.М. Иванов, В.В. Поройков

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

Аннотация

Актуальность изучения взаимодействия вируса иммунодефицита с организмом человека обусловлена необходимостью уточнения механизмов развития ВИЧ-инфекции и ее влияния на патогенез сопутствующих заболеваний с целью повышения эффективности существующих и разработки новых стратегий терапии, учитывающих индивидуальные особенности пациента. Современные подходы системной биологии и биоинформатики позволяют проанализировать *in silico* всю совокупность экспериментальных данных, извлекать из них информацию, генерировать новые знания. Нами разработаны методы автоматизированного отбора релевантных данных из различных источников и их интеграции, проведен поиск ключевых мишеней - регуляторов скорости развития ВИЧ-инфекции и осуществлена экспериментальная валидация компьютерных расчетов; предложены алгоритмы оценки эффективности антиретровирусной терапии с учетом генетических особенностей вируса и индивидуальных характеристик пациентов. Разработанные методы интегрированы в единую платформу hiv-host (https://www.way2drug.com/hiv-host), которая включает в себя (1) информационный компонент – базы данных (БД) о взаимодействии макромолекул ВИЧ и организма человека и с информацией об истории терапии ВИЧ-инфекции; и (2) вычислительный компонент - модели и веб-приложения для анализа эффективности антиретровирусной терапии с учетом информации о молекулярно-генетических особенностях последовательностей ВИЧ и специфики действия лекарственных препаратов. Разработанный нами подход к анализу взаимодействия вируса иммунодефицита с организмом человека может быть применен для выявления особенностей протекания инфекций, вызванных другими инфекционными агентами.

Введение

Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ) является актуальным объектом исследований в области биологии и медицины уже в течение многих лет, поскольку вызываемая этим вирусом инфекция является социально-значимой проблемой. ВИЧ-инфекция приводит к иммунной дисфункции, функциональному истощению Т-киллеров (CD8+ Т-лимфоцитов), хронической активации CD4+ и CD8+ Т-клеток, хроническому воспалению. Исследование взаимодействия ВИЧ с организмом человека приведет к более глубокому пониманию развития

ВИЧ-инфекции на молекулярном уровне, что позволит уточнить механизмы патогенеза заболеваний, индуцируемых циркуляцией вируса в организме человека.

Современные вычислительные подходы системной биологии и биоинформатики играют важную роль в исследовании молекулярных механизмов, приводящих к конкретной симптоматике у отдельных пациентов, тем самым способствуя поиску потенциальных молекулярных мишеней для разработки стратегий терапевтического воздействия. В настоящей работе представлены основные результаты разрабатываемого нами в течение нескольких лет компьютерного подхода для комплексного анализа механизмов взаимодействия ВИЧ с организмом человека на основе алгоритмов биоинформатики с учетом всей совокупности доступных экспериментальных данных. Разработанные методы и алгоритмы включают в себя подход к извлечению релевантной структурированной информации о взаимодействии ВИЧ и организма человека [1-3]; моделирование ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию и оценку механизмов скорости развития инфекции на основе анализа транскриптомных данных [4,5]; поиск регуляторов медленной прогрессии (низкой скорости развития иммунной дисфункции) ВИЧ-инфекции [4]; прогнозирование лекарственной устойчивости и оценку эффективности антиретровирусной терапии [6-15]. Дополнительно рассмотрено применение алгоритмов системной биологии к установлению механизмов развития онкологических заболеваний, ассоциированных с вирусной инфекцией.

Материалы и методы

Для проведения комплексного анализа взаимодействия ВИЧ с организмом человека *in silico* нами разработан подход, включающий (1) автоматизированный отбор релевантных данных из различных источников и их интеграцию; (2) моделирование ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию для поиска ключевых мишеней - регуляторов дисфункции инфицированных клеток и медленной прогрессии инфекции; (3) моделирование эффективности антиретровирусной терапии по данным о генетических особенностях вируса и с учетом индивидуальных характеристик пациентов; (4) экспериментальную валидацию компьютерных оценок (рисунок 1).

Интеграция данных

Из различных источников, включающих тексты научных публикаций и базы данных были извлечены обширные данные о взаимодействии ВИЧ и организма человека. Нами также ~~были~~ проанализированы информационные ресурсы, содержащие геномные, транскриптомные и протеомные данные, полученные от пациентов с ВИЧ-инфекцией. Поскольку в процессе оценки извлеченных сведений было выявлено, что наибольшее количество информации об ответе организма человека на ВИЧ-инфекцию получено с применением транскриптомных данных, компьютерное моделирование ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию было проведено с

использованием этой информации. Соответствующие транскриптомные данные были получены из общедоступных источников: Gene Expression Omnibus (GEO) [16] и ArrayExpress [17]. Информация о взаимодействии макромолекул ВИЧ и организма человека была извлечена из общедоступных баз данных (БД): HIV-1 Human Interaction Database [18], HPIDB 3.0 [19], и других.

Рисунок 1. Схема разработанного подхода к анализу взаимодействия ВИЧ и организма человека

С целью максимального охвата доступной в литературе информации о взаимодействиях ВИЧ и организма человека, нами был разработан специальный подход к извлечению необходимых сведений из текстов аннотаций научных публикаций, состоящий из следующих этапов: (1) автоматическое извлечение аннотаций научных публикаций, релевантных запросу; (2) распознавание наименований белков, генов, и лекарственно-подобных соединений в текстах аннотаций; (3) установление взаимосвязей между извлеченными наименованиями.

Моделирование ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию

Для моделирования ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию с целью поиска потенциальных регуляторов апоптоза Т-лимфоцитов применен разработанный в лаборатории структурно-функционального конструирования лекарств ИБМХ оригинальный алгоритм дихотомического моделирования [20] и поиск мастер- регуляторов - белков, которые модулируют нисходящие каскады в сети белковых взаимодействий и влияют на экспрессию генов при ВИЧ-инфекции. Поиск мастер-регуляторов был проведен с применением платформы Genome Enhancer

[21] (geneXplain® GmbH). Мы провели поиск мастер-регуляторов медленной прогрессии ВИЧ-инфекции в CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитах, поскольку дисфункция CD4+ Т-лимфоцитов возникает вследствие цитотоксического действия вируса [22]; при персистирующей инфекции наблюдается хроническая активация CD8+ Т-лимфоцитов, которая приводит к их истощению и дисфункции [22].

Моделирование эффективности антиретровирусной терапии

Нами проведено моделирование лекарственной устойчивости ВИЧ по отношению к антиретровирусной терапии на основе анализа информации об аминокислотных и нуклеотидных последовательностях вариантов вируса.

При моделировании лекарственной устойчивости ВИЧ мы исследовали возможности применения различных дескрипторов для описания последовательностей структурных ферментов ВИЧ, включая позиционно специфические дескрипторы [6], короткие пептидные фрагменты [7-10], структурные дескрипторы фрагментов последовательностей [7]. Для построения моделей применены методы машинного обучения: наивный Байесовский классификатор, случайный лес, метод опорных векторов.

В качестве признаков для построения моделей оценки эффективности терапии при ВИЧ-инфекции мы использовали характеристики уровней экспрессии генов у пациентов с эффективной и недостаточно эффективной терапией, а также информацию о принимаемых пациентом препаратах и длительности терапии.

Результаты и обсуждение

Разработанный подход извлечения наименований биологических объектов (макромолекул) и лекарственно-подобных соединений апробирован нами в задаче поиска ключевых белков регуляции скорости прогрессии ВИЧ-инфекции и изменения уровня транскрипции в клетках периферической крови [3]. Так, в результате извлечения из текстов релевантных публикаций наименований белков, ассоциированных с различной скоростью развития ВИЧ-инфекции, и наименований генов, для которых в публикациях показано изменение уровня транскрипции генов клеток крови при развитии ВИЧ-инфекции, нами было идентифицировано 239 таких генов. Этот перечень был сопоставлен с экспериментальными данными для 11 пациентов с ВИЧ-инфекцией, для которых в рамках клинического исследования, проводимого с целью экспериментальной валидации, поддержанного грантом Российского Научного фонда (РНФ-19-75-10097) были получены оценки уровня транскрипции генов клеток периферической крови для разного времени течения заболевания (1 месяц и 6 месяцев с момента лабораторно-подтвержденного диагноза соответственно).

Для десяти из 239 найденных в результате автоматизированного анализа текстов генов различие в уровне их транскрипции в зависимости от длительности течения ВИЧ-инфекции было подтверждено в проведенном нами эксперименте. В числе этих генов такие, как моноцитарный антиген CD14, толл-подобные рецепторы 2 и 4, протоонкоген тирозин-протеинкиназа SRC, тирозин-протеин киназа HCK, межклеточная молекула адгезии 1. Эти молекулы имеют значение в развитии врожденного и приобретенного компонентов иммунитета. Роль этих генов в развитии и регуляции скорости прогрессии ВИЧ-инфекции детально рассмотрена в нашей публикации O.A. Tarasova et al., 2023 [3].

Практическим результатом реализации подхода извлечения наименований белков, генов, ассоциированных с течением ВИЧ-инфекции, и лекарственно-подобных соединений, стало создание алгоритма распознавания наименований биологических и химических объектов, заболеваний, и выявления ассоциаций между ними, и создание БД с веб-интерфейсом, содержащей автоматически извлеченные и верифицированные группой экспертов наименования биологических макромолекул ВИЧ и организма человека, а также лекарственно-подобных органических соединений, протестированных в отношении влияния на различные звенья патогенеза ВИЧ-инфекции с указанием материалов и методов исследования, подтверждающих факты взаимодействия. БД доступна в рамках созданной нами платформы hiv-host (https://www.way2drug.com/hiv-host) [23].

Разработанный нами оригинальный подход извлечения информации из текстов научных публикаций совместно с анализом обогащения по функциональной принадлежности также был применен для поиска макромолекул, взаимодействующих с элементами пути Hedgehog, который активен у человека в эмбриональном периоде, а в более старшем возрасте его активация может провоцировать опухолевые заболевания [24]. С применением интеллектуального анализа текстов и анализа обогащения по функциональной принадлежности было изучено взаимодействие компонентов пути Hedgehog с другими белками и их вклад в заболевания, которые могут быть ассоциированы с его патологической активацией. В результате были выявлены процессы и сигнальные каскады, связанные с модуляцией активности отдельных компонентов пути Hedgehog, среди которых онкологические заболевания (меланома, гепатоцеллюлярная карцинома, рак желудка, глиома и др.) процессы регуляции дифференцировки клеток, инфекции, вызванные вирусами, бактериями и простейшими, процессы, характерные для аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, а также сахарный диабет 1 и 2 типа, диабетическая кардиомиопатия. Эти результаты способствуют пониманию общих механизмов для онкологических, аутоиммунных, хронических воспалительных и инфекционных заболеваний, что требует дополнительных исследований. Результаты работы [24] указывают на актуальность разработки и тестирования методов анализа влияния вирусных в целом, и ВИЧ-инфекции, в

частности, на развитие сопутствующих заболеваний и патологии, которая может быть индуцирована вирусной инфекцией.

В результате моделирования ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию были выявлены парные и тройные комбинации вершин сети, воздействие (ингибирование/активация) на которые может приводить к блокаде апоптоза - предполагаемому целевому событию для Т-лимфоцитов при ингибировании прогрессии ВИЧ-инфекции. В числе отобранных в результате моделирования комбинаций ингибируемых генов для CD8+ Т-лимфоцитов такие, как (CASP9; FADD); (CASP12; CASP9; FADD); (CASP12; CASP9; TRADD); для CD4+ Т-лимфоцитов такие, как (CASP9; FADD; GZMB); (CASP9; GZMB; TRADD); (BCL2; BID).

В литературе приведены данные о взаимосвязи апоптоза с течением ВИЧ-инфекции [25-26]. Так, в дополнение к данным о ВИЧ-опосредованной аутофагии и апоптозе CD4+ Т-лимфоцитов, также известно, что к апоптозу инфицированных вирусом клеток с большой вероятностью приводят варианты ВИЧ, которые преобладают в организме человека при длительном течении инфекции [25], а также о влиянии раннего назначения антиретровирусных препаратов на интенсивность апоптоза [26]. Полученные нами результаты подтверждают применимость дихотомического моделирования к поиску ключевых мишеней, вовлеченных в динамику развития апоптотического процесса при ВИЧ-инфекции, и потенциально важных для исследования развития ВИЧ-ассоциированных онкологических заболеваний.

С целью поиска мастер-регуляторов медленного развития ВИЧ-инфекции в организме человека были проанализированы разные профили транскрипции CD8+ Т-лимфоцитов от 51 пациентов, у которых в течение длительного времени наблюдалась крайне низкая вирусная нагрузка (т.н. элитные контроллеры), 32 типичных прогрессора (люди с обычной скоростью прогрессии инфекции), принимающие антиретровирусную терапию (АРТ), 14 ВИЧ-позитивных пациентов, не принимающих АРТ, и 17 здоровых людей. В результате было выявлено, что в группе элитных контроллеров наблюдается некоторая гетерогенность, и для части этой группы наблюдается сходство по профилям транскрипции с типичными прогрессорами, принимающими АРТ. Таким образом, у элитных контроллеров может существовать механизм, направленный на снижение вирусной нагрузки, что сопровождается изменением функционирования CD8+ Т-лимфоцитов, подобно пациентам, у которых вирусная нагрузка снижается вследствие приема АРТ и приводит к нормализации функции CD8+ Т-лимфоцитов. Результаты моделирования ответа организма человека на ВИЧ-инфекцию при различной скорости развития этого заболевания на основе транскриптомных данных опубликованы в нашей работе [4].

С применением методов машинного обучения были построены модели лекарственной устойчивости ВИЧ, точность которых – сопоставима, а для ряда лекарственных препаратов превышает таковую для ранее разработанных методов [6-10]. Разработано и реализовано веб-

приложение для компьютерного прогноза лекарственной устойчивости ВИЧ на основе аминокислотных последовательностей основных структурных белков вируса: https://www.way2drug.com/hiv-host/hvr/ [7]. Разработанные нами методы и подходы интегрированы в единую платформу hiv-host (https://www.way2drug.com/hiv-host) [23], которая включает в себя (1) информацию об извлеченных наименованиях взаимодействующих макромолекул ВИЧ и организма человека; (2) модели для прогнозирования эффективности антиретровирусной терапии; (3) веб-сервис для прогноза лекарственной устойчивости ВИЧ; (4) специализированную базу данных о последовательностях ВИЧ и динамике вирусной нагрузке, иммунограммах пациентов с ВИЧ-инфекцией при приеме конкретных схем антиретровирусной терапии; (5) веб-ресурс для прогнозирования синергизма лекарственных препаратов в отношении ингибирования репликации ВИЧ-инфекции.

Заключение

Медицина XXI века развивается стремительными темпами и способствует существенному улучшению качества и увеличению продолжительности жизни. В настоящее время методы анализа данных и моделирования с применением компьютерных алгоритмов стали неотъемлемой областью современной медицины и биологии. Био- и хемоинформатика, которые включают в себя весь спектр компьютерных алгоритмов для анализа структуры и функции биологических молекул, пространства структур низкомолекулярных соединений, и совокупности их эффектов, сегодня предоставляют исследователям уникальные возможности, которые могут найти широкое применение в медицине и фармакологии. Например, такие модели могут быть применены для дизайна лекарственных препаратов, исследования их возможных потенциальных эффектов; оценки эффективности и безопасности. Не менее важным является возможность применения методов системной биологии, биоинформатики для поиска механизмов заболеваний, индуцированных инфекционными заболеваниями, но диагностируемых как самостоятельные, не связанные с исходным заболеванием патологии (сопутствующие заболевания).

Разработанный нами подход к компьютерному анализу взаимодействия ВИЧ с организмом человека с учетом всей совокупности экспериментальных данных направлен на выявление механизмов регуляции генной экспрессии, ассоциированных с различной скоростью развития дисфункции иммунной системы, определение белков организма человека и их комбинаций, вовлеченных в контроль проапоптотических и провоспалительных процессов и оценку эффективности антиретровирусной терапии. Разработанный подход, соответствующие модели и алгоритмы, апробированные для случая анализа взаимодействия ВИЧ с организмом человека, могут быть применены для анализа взаимодействия различных вирусов с организмом человека и оценки последствий перенесенных острых и хронических персистирующих вирусных инфекций.

Исследования поддержаны программой долгосрочной поддержки фундаментальных исследований в Российской Федерации на 2021-2030 годы (№ 122030100170-5).

ЛИТЕРАТУРА

1. Biziukova N. et al. Automated Extraction of Information From Texts of Scientific Publications: Insights Into HIV Treatment Strategies // Front. Genet. 2020. Vol. 11. P. 618862.
2. Tarasova O.A. et al. Data Mining Approach for Extraction of Useful Information About Biologically Active Compounds from Publications // J. Chem. Inf. Model. 2019. Vol. 59, № 9. P. 3635–3644.
3. Tarasova O. et al. Identification of Molecular Mechanisms Involved in Viral Infection Progression Based on Text Mining: Case Study for HIV Infection // IJMS. 2023. Vol. 24, № 2. P. 1465.
4. Ivanov S., Filimonov D., Tarasova O. A computational analysis of transcriptional profiles from CD8(+) T lymphocytes reveals potential mechanisms of HIV/AIDS control and progression // Computational and Structural Biotechnology Journal. 2021. Vol. 19. P. 2447–2459.
5. Ivanov S. et al. Network-Based Analysis of OMICs Data to Understand the HIV–Host Interaction // Front. Microbiol. 2020. Vol. 11. P. 1314.
6. Tarasova O., Filimonov D., Poroikov V. PASS-based approach to predict HIV-1 reverse transcriptase resistance // J Bioinform Comput Biol. 2017. Vol. 15, № 2. P. 1650040.
7. Paremskaia A.Iu. et al. Web Service for HIV Drug Resistance Prediction Based on Analysis of Amino Acid Substitutions in Main Drug Targets // Viruses. 2023. Vol. 15, № 11. P. 2245.
8. Tarasova O. et al. A Computational Approach for the Prediction of HIV Resistance Based on Amino Acid and Nucleotide Descriptors // Molecules. 2018. Vol. 23, № 11. P. 2751.
9. Tarasova O., Poroikov V., Veselovsky A. Molecular Docking Studies of HIV-1 Resistance to Reverse Transcriptase Inhibitors: Mini-Review // Molecules. 2018. Vol. 23, № 5. P. 1233.
10. Pikalyova K. et al. HIV-1 drug resistance profiling using amino acid sequence space cartography // Bioinformatics / ed. Wren J. 2022. Vol. 38, № 8. P. 2307–2314.
11. Tarasova O. et al. RHIVDB: A Freely Accessible Database of HIV Amino Acid Sequences and Clinical Data of Infected Patients // Front. Genet. 2021. Vol. 12. P. 679029.
12. Rhee S.-Y. et al. Spectrum of Atazanavir-Selected Protease Inhibitor-Resistance Mutations // Pathogens. 2022. Vol. 11, № 5. P. 546.
13. Tarasova O., Poroikov V. Machine Learning in Discovery of New Antivirals and Optimization of Viral Infections Therapy // CMC. 2021. Vol. 28, № 38. P. 7840–7861.

14. Tarasova O.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V. Computational prediction of human immunodeficiency resistance to reverse transcriptase inhibitors // BIOMED KHIM. 2017. Vol. 63, № 5. P. 457–460.
15. Tarasova O. et al. A Computational Approach for the Prediction of Treatment History and the Effectiveness or Failure of Antiretroviral Therapy // IJMS. 2020. Vol. 21, № 3. P. 748.
16. Tarasova O.A. et al. Data Mining Approach for Extraction of Useful Information About Biologically Active Compounds from Publications // J. Chem. Inf. Model. 2019. Vol. 59, № 9. P. 3635–3644.
17. Ogarkova D. et al. Current Trends of HIV Infection in the Russian Federation // Viruses. 2023. Vol. 15, № 11. P. 2156.
18. Redman K.N. et al. Delayed circadian rhythms in older Africans living with human immunodeficiency virus (HIV) // J Pineal Res. 2023. Vol. 74, № 1. P. e12838.
19. Rein S.M. et al. Integrase strand-transfer inhibitor use and cardiovascular events in adults with HIV: an emulation of target trials in the HIV-CAUSAL Collaboration and the Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration // The Lancet HIV. 2023. Vol. 10, № 11. P. e723–e732.
20. Ivanov S.M. et al. Identification of drug targets related to the induction of ventricular tachyarrhythmia through a systems chemical biology approach // Toxicol Sci. 2015. Vol. 145, № 2. P. 321–336.
21. Genome Enhancer – a fully automated pipeline for patient omics data analysis. (автоматический пакет анализа омиксных данных пациента) // https://genexplain.com/genome-enhancer/ (дата обращения 27.01.2024).
22. Deeks S. G. et al. HIV infection // Nature Reviews Disease Primers. 2015. № 1 (1). С. 15035.
23. Вычислительная платформа hiv-host // www.way2drug.com/hiv-host/ (дата обращения 27.01.2024).
24. Biziukova N.Yu., Ivanov S.M., Tarasova O.A. Identification of Proteins and Genes Associated with Hedgehog Signaling Pathway Involved in Neoplasm Formation Using Text-Mining Approach // Big Data Min. Anal. 2024. Vol. 7, № 1. P. 107–130.
25. Castro-Gonzalez S. et al. HIV Nef-mediated Ubiquitination of BCL2: Implications in Autophagy and Apoptosis // Front. Immunol. 2021. Vol. 12. P. 682624.
26. Garg H., Mohl J., Joshi A. HIV-1 induced bystander apoptosis // Viruses. 2012. Vol. 4, № 11. P. 3020–3043.
27. Ehrhard S. et al. Effect of antiretroviral therapy on apoptosis markers and morphology in peripheral lymph nodes of HIV-infected individuals // Infection. 2008. Vol. 36, № 2. P. 120–129.

БЕСПРОВОДНАЯ ВИДЕОКАПСУЛЬНАЯ И БАЛЛОННО-АССИСТИРОВАННАЯ ТОТАЛЬНАЯ ВИДЕО-ЭНТЕРОСКОПИЯ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ, РАДИКАЛЬНО ИЗМЕНИВШИЕ АЛГОРИТМ И РЕЗУЛЬТАТЫ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РАНЕЕ НЕДОСТИЖИМЫМИ ТОНКОКИШЕЧНЫМИ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ

Е.В. Тихомирова[1,2], Е.В. Иванова[1,4], О.И. Юдин[1,4], Е.Д. Федоров[1,3,4]

[1]Кафедра госпитальной хирургии № 2 с НИЛ хирургической гастроэнтерологии и эндоскопии ФГАОУ РНИМУ им. Н. И. Пирогова МЗ РФ, Москва

[2]Кафедра общей и специализированной хирургии ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

[3]ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 31 им. Академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения г. Москвы»

[4]АО «Клиника К+31», Москва

Введение. Определение источника тонкокишечного кровотечения (ТКК), недостижимого при эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) и колоноскопии и составляющего до 5—10% случаев всех желудочно-кишечных кровотечений, остается актуальной проблемой для врачей различных специальностей [1,2]. Сложность диагностики источников ТКК состоит в том, что заболевания тонкой кишки, как правило, не имеют специфической клинической картины, и только осложнение их кровотечением служит первым поводом для обследования пациентов [3,4]. Тонкокишечные кровотечения, как правило, носят рецидивирующий характер, могут быть явными (проявляющимися клинической картиной явного ЖКК, зачастую тяжелой степени) и скрытыми (проявляющимися железодефицитной анемией и, в некоторых случаях, положительным анализом кала на скрытую кровь) [5,6]. Несмотря на длительный поиск источника и применение огромного спектра диагностических методов, включающих инвазивные, например, лапаротомию, в ряде случаев источник кровотечения так и остается неустановленным [5].

Начиная с 2015 г. повсеместное внедрение в клиническую практику методик видеокапсульной (ВКЭ) и баллонно-ассистированной (БАЭ) энтероскопии, показавших высокую диагностическую ценность (92,3% и 80,0%, соответственно), улучшило диагностику источников тонкокишечных кровотечений [7]. Однако алгоритмы диагностики таких пациентов при первичном поступлении, а также их судьба и влияние ВКЭ и БАЭ в отдаленном периоде мало изучены.

Цель исследования: оценка влияния видеокапсульной и баллонно-ассистированной энтероскопии на непосредственные, ближайшие и отдаленные результаты диагностики и лечения пациентов с перенесенным тонкокишечным кровотечением.

Материал и методы. В нашей клинике с февраля 2007 по февраль 2018 г. с подозрением на тонкокишечное кровотечение обследовался 221 пациент: 115 (52,0%) мужчин и 106 (48,0%) женщин в возрасте от 18 до 89 лет (средний 52,2 ± 18,4 года). В экстренном порядке с клинической картиной ЖКК в стационар госпитализированы 62 (28,1%) пациентов из 221. В плановом порядке с целью обследования тонкой кишки с помощью ВКЭ и/или БАЭ поступили 159 (71,9%) пациентов. Клиническая картина явного кровотечения, проявляющегося меленой или гематохезией, имелась у 134 (60,6%) пациентов из 221; скрытого кровотечения, проявляющегося слабостью и железодефицитной анемией — у 87 (39,4%). Эпизоды потери сознания в анамнезе отмечали 25 (18,6%) из 134 пациентов с клинической картиной явного кровотечения. Пациенты со скрытым кровотечением не отмечали эпизодов потери сознания. Впервые возникшее внутрипросветное кровотечение развилось у 40 (29,8%) из 134 пациентов с явным кровотечением. Рецидивы кровотечения в анамнезе, без верифицированного источника, возникали у 102 (70,2%) из 134 пациентов. Кроме жалоб, свидетельствующих о кровопотере в просвет ЖКТ, болевой синдром отмечал 51 (23,1%) пациент, жалобы на диарею имелись у 32 (14,5%) пациентов, на тошноту и рвоту — у 22 (9,9%). На момент обследования тонкой кишки длительность анемии до 7 дней имелась у 42 (19,0%) пациентов, до 6 мес — у 57 (25,8%), от полугода до года — у 31 (14,0%), более 1 года — у 91 (41,2%). В ходе обследования в клинике анемия тяжелой степени (уровень гемоглобина — Hb <70 г/л) диагностирована у 83 (37,6%) пациентов из 221, средней степени (Hb 70—90 г/л) — у 85 (38,5%) пациентов, легкой степени (Hb >90 г/л) — у 53 (23,9%) пациентов.

В стационаре, кроме анализа жалоб и анамнеза, выполняли физикальное обследование, лабораторные и инструментальные исследования. Ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости выполнено у 221 (100,0%) пациента, КТ (в том числе КТ-энтерография) — у 61 (27,6%), пассаж бария по тонкой кишке — у 51 (23,1%), ангиография — у 42 (19,0%), МРТ брюшной полости — у 25 (11,3%), сцинтиграфия — у 10 (4,5%), радионуклидное исследование с меченым радиоактивным хромом — у 7 (3,1%). Эндоскопические методы обследования включали ЭГДС и колоноскопию у 221 (100,0% пациентов), ВКЭ у 149 (75,6%) пациентов, БАЭ у 139 (62,9%) пациентов, в том числе у 115 (58,3%) после ранее выполненной ВКЭ.

Для проведения ВКЭ в клинике наиболее часто применялась система с капсулой производства Olympus EC-1, EC-10 (Япония), Medtronic – PillCam SB2, SB3 (Израиль), OMOM (КНР) и Mirocam (Южная Корея). Капсульная энтероскопия проводилась натощак, после подготовки тонкой кишки, включающей соблюдение диеты с ограничением растительной клетчатки за 3 дня до исследования и прием слабительного препарата в комбинации с пеногасителем. Методика видеокапсульного исследования состояла из нескольких этапов: 1)

закрепление пояса-датчика на талии пациента/ установка датчиков на передней брюшной стенке пациента (ранее, до 2014г.), и подключение их к записывающему устройству; 2) активация капсулы с помощью магнита с последующей видеозаписью ее движения по желудочно-кишечному тракту, проглатывание капсулы пациентом; 3) анализ и интерпретации видеозаписи после возврата оборудования пациентом в клинику.

Для выполнения однобаллонной энтероскопии мы использовали диагностический видеоэндоскоп для обследования тонкой кишки SIF-Q180 и прототип терапевтического эндоскопа XSIF-180JY с инструментальным каналом большего диаметра (3,2 мм) и отдельным каналом для подачи воды (Olympus, Япония). Система для энтероскопии включала эндоскоп, тубус с баллоном на дистальном конце и блока, контролирующего нагнетание воздуха в баллон. В 3-х случаях для проведения энтероскопии применялась методика двухбаллонной энтероскопии с применением системы, включающей энтероскоп EN-450T5 с баллоном на дистальном конце, шинирующую трубку, несущую второй баллон и блок нагнетания воздуха и контроля давления в обоих баллонах (Fujifilm, Япония). Исследование тонкой кишки проводили под общим внутривенным обезболиванием с сохранением спонтанного дыхания, а также с применением эндотрахеального наркоза. Однобаллонная энтероскопия выполнялась по методике продвижения-присборивания по тонкой кишке с помощью раздувания-сдувания баллона на дистальном конце аппарата. Особенностью двухбаллонной энтероскопии было раздувание второго баллона на дистальном конце аппарата, обеспечивающего дополнительную фиксацию аппарата в глубоких сегментах тонкой кишки.

Статистический анализ проведен с помощью пакета Statistika 6.0. При определении различий между группами для качественных показателей использовали критерий Краслела-Уоллеса, а для количественных – U-критерий Манна-Уитни.

Результаты. По результатам обследования источники кровотечения были выявлены у 183 пациентов (82,8%) из 221, не были выявлены у 38 (17,1%). Источники кровотечения бли локализованы в тощей и подвздошной кишке у 162 (73,3%) пациентов, вне этих органов — у 21 (9,5%). Сосудистые мальформации явились источником тонкокишечного кровотечения у 64 (39,5%) пациентов, опухоли тонкой кишки — у 49 (30,2%), эрозивно-язвенные энтеропатии — у 42 (25,9%), дивертикулы тонкой кишки (в том числе, дивертикул Меккеля) — у 7 (4,4%). Сосудистые мальформации тонкой кишки, явившиеся источником кровотечения у 64 (39,5%) из 162 пациентов, представляли собой ангиоэктазии у 45 (75,0%) из них, артериовенозные мальформации — у 10 (15,6%), поражения Дьелафуа — у 3 (4,6%). Комбинации сосудистых мальформаций (ангиоэктазии и артериовенозные мальформации) выявлены у 6 (9,4%) пациентов. Признаки продолжающегося кровотечения на момент осмотра капсулой либо энтероскопом

имелись у 4 (6,2%) пациентов. Критериями, влияющими на лечебную тактику у пациентов с сосудистыми мальформациями, были макроскопический вид, размер, количество и особенности локализации в тонкой кишке. Оперативное лечение по поводу крупных артериовенозных мальформаций, диаметром 10—40 мм, выполнено у 2 (3,2%) пациентов. Эндоскопический гемостаз (методом аргоноплазменной коагуляции и/или клипирования) в ходе БАЭ был выполнен в 29 (45,3%) случаях: у 25 больных с ангиоэктазиями и 3 больных с поражением Дьелафуа **(рис. 1.)**. Еще у одной пациентки выполнено клипирование артериовенозной мальформации диаметром 6 мм и АПК мелкоточечных ангиоэктазий. Консервативная терапия с использованием препаратов железа была рекомендована в 33 (51,5%) случаях: 13 больным с ангиоэктазиями, отказавшимся от БАЭ и эндоскопического гемостаза, и 20 больным с множественными мальформациями разного размера, расположенными по всей тонкой кишке. Рецидивы ТКК в процессе госпитализации после лечения не отмечены ни у кого.

Подозрение на наличие опухоли тонкой кишки как источника кровотечения, по данным ВКЭ, было у 49 (30,2%) из 162 пациентов. В связи связи с отказом 7 (14,3%) пациентов от дальнейшего обследования верификация диагноза и лечение проведены у 42 (85,7%) больных. Доброкачественные опухоли, верифицированные у 15 (35,7%) из 42 пациентов, были представлены множественными гамартомами Пейтца—Егерса (11), лимфангиомой (1), ангиофибролипомой (1), лейомиомой (1), аденомой (1). Злокачественные опухоли, верифицированные у 27 (64,3%) пациентов, были представлены аденокарциномой (8), ГИСО (7), нейроэндокринными опухолями (6), лимфомой (4), недифференцированным раком (2). В ходе проведения капсульной энтероскопии либо БАЭ признаки продолжающегося кровотечения зарегистрированы у 4 (9,5%) из 42 пациентов. Критериями, определяющими лечебную тактику и объем оперативного вмешательства при диагностике опухолей тонкой кишки, являлись патоморфологическое строение, степень дифференцировки, стадия, размеры, количество и распределение опухолей по тонкой кишке. Полипоз Пейтца—Егерса (n=11) верифицирован по характерному внешнему виду (рыхлое, дольчатое строение гамартом с изъязвленной поверхностью) и распределению гамартом по ходу всей тонкой кишки, по данным энтероскопии. Хирургическая резекция сегмента тонкой кишки, несущей гамартому была выполнено у 2 (18,2%) пациентов, эндоскопическая резекция гамартом через энтероскоп — у 9 (81,8%) пациентов. Аденома тощей кишки с легкой степенью дисплазии была удалена через энтероскоп.

У пациентов с инфильтративными поражениями тонкой кишки, схожими по внешнему виду, БАЭ позволила выполнить биопсию, провести дифференциальную диагностику и определить дальнейшую тактику лечения. В случае верификации аденокарцином тощей кишки (n=8; во всех случаях — умеренно-дифференцированные, T3N0Mx/T4N0Mx) и

недифференцированного рака тощей кишки (II стадия; *n*=1) выполнена резекция участка тонкой кишки, несущего опухоль. Иммуногистохимическая верификация лимфом у 3 (75,0%) из 4 больных (у всех — диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома, стадии: 4В, 4В, 1А) дала возможность избежать хирургического вмешательства и успешно провести консервативное лечение (курсы полихимиотерапии (ПХТ)). У 4-го больного, по данным ВКЭ, имелось циркулярное изъязвление с сужением просвета подвздошной кишки, проходимое для капсулы. Биопсия, выполненная в ходе БАЭ, позволила выявить признаки язвенного энтерита, но после резекции участка подвздошной кишки гистологическое и иммуногистохимическое исследование позволили верифицировать MALT-лимфому.

Характерными отличительными признаками нейроэндокринных опухолей (НЭО) была их локализация, в большинстве случаев в подвздошной кишке — от 5 до 20 образований у 5 (83,3%) из 6 больных и множественность. С целью определения проксимальной и дистальной границы резекции опухолей были выполнены модифицированные варианты БАЭ: интраоперационная энтероскопия (*n*=3) и лапароскопически-ассистированная энтероскопия (*n*=2). БАЭ позволила выполнить прецизионную, в пределах здоровых тканей, резекцию сегментов тонкой кишки, несущих опухоль. У 1-й пациентки при ВКЭ обнаружена единичная НЭО в подвздошной кишке, выполнены лапароскопия, резекция сегмента подвздошной кишки без предварительной БАЭ.

У пациентов с единичными субэпителиальными опухолями (СубЭО) после ВКЭ с целью подтверждения выявленных изменений и более точного определения их расположения в тонкой кишке выполнена БАЭ. Все СубЭО, включающие 7 ГИСО (**рис.2**) (низкая митотическая активность (*n*=7), I стадии (*n*=5), II стадии (*n*=1), IIIA стадии (*n*=1), низкий риск рецидива (*n*=5), высокий риск (*n*=2)), 1 лимфангиому, 1 ангиофибролипому, 1 лейомиому, были удалены хирургически с помощью резекции участка тонкой кишки с опухолью (*n*=8), энтеротомии и иссечения (*n*=2).

Таким образом, хирургические вмешательства по поводу опухолей в объеме резекции сегмента тонкой кишки, несущего опухоль, выполнены у 28 (63,6%) из 42 пациентов. Комплексное предоперационное обследование, включающее ВКЭ и БАЭ, позволило избежать широкой лапаротомии и выполнить лапароскопически-ассистированное (*n*=7), либо полностью лапароскопическое (*n*=5) вмешательство у 12 (42,8%) из 28 больных. Эндоскопическое удаление образований тонкой кишки через энтероскоп выполнено у 10 (23,8%) из 42 больных: гамартом Пейтца—Егерса (*n*=9) и аденомы тощей кишки (*n*=1). Не были оперированы 4 (9,5%) больных: 3 пациентам с лимфомами тонкой кишки проведены курсы ПХТ. Еще один пациент 85 лет с недифференцированным раком тощей кишки IV стадии умер от острого нарушения мозгового кровообращения на 5-е сутки от поступления в стационар.

Эрозивно-язвенные поражения тонкой кишки как источник ТКК верифицированы у 42 (25,9%) из 162 больных. Эти поражения были представлены эрозивным энтеритом — у 23 (54,8%) из 42 больных, язвенным энтеритом — у 19 (45,2%). Язвы в зоне энтероэнтероанастомоза у пациентов, оперированных на тонкой кишке в анамнезе имелись у 8 (19,0%) из 42 больных, язвы при болезни Крона — у 6 (14,3%); язвы, индуцированные НПВС — у 4 (9,5%), язвенный стенозирующий энтерит у 1 (2,4%). Критерии, влияющие на определение дальнейшей тактики лечения, включали данные анамнеза; результат специфических лабораторных анализов (уровень фекального кальпротектина и С-реактивного белка); результаты эндоскопического и патоморфологического исследования. Оперативное лечение выполнено у 8 (19,0%) пациентов, консервативное лечение/наблюдение назначено 34 (81,0%) пациентам.

Дивертикулы тонкой кишки явились источником ТКК у 7 из 162 пациентов, в том числе, дивертикулы Меккеля у 6 из них. Признаки неспецифических патологических изменений в подвздошной кишке, по результатам капсульной эндоскопии, вместе с результатами БАЭ (в 5 из 6 случаев) и сцинтиграфии (в 1 из 6 случаев) определили показания к диагностической лапароскопии и позволили выявить дивертикул Меккеля (**рис.3**). У всех 7 пациентов выполнена резекция тонкой кишки, включающей дивертикулы, с формированием анастомоза бок в бок.

Таким образом, тактика лечения определена у 154 (95,1%) из 162 пациентов с источниками ТКК в тонкой кишке. Консервативное лечение рекомендовано 70 (45,5%) пациентам, эндоскопическое проведено у 39 (25,3%) пациентов, хирургическое лечение — у 45 (29,3%).

Нежелательные явления на этапе диагностики описаны у 5 (2,3%) из 221 больных. Задержка капсулы наблюдалась у 4 пациентов: перед опухолевым (n=1), рубцово-язвенным стенозом (n=2) и дивертикулом Меккеля, осложненным дивертикулитом, с признаками стеноза просвета (n=1). БАЭ, биопсия и извлечение капсулы с последующей резекцией сегмента тонкой кишки и наложением анастомоза бок-в-бок выполнены у 3 пациентов. Капсулу не удалось извлечь у 1 пациента с дивертикулом Меккеля, осложненным стенозом. Кровотечение, развившееся после биопсии из области стеноза, привело к неотложной лапароскопии, минилапаротомии, резекции сегмента подвздошной кишки, несущего дивертикул. Нежелательное явление непосредственно после БАЭ (кровотечение после биопсии из лимфомы тощей кишки) (n=1) было остановлено эндоскопически с помощью АПК.

Послеоперационные осложнения (острая спаечная тонкокишечная непроходимость) развились у 5 (11,1%) из 45 пациентов на 4-7 сутки после резекции сегмента тонкой кишки. Всем больным выполнены релапаротомия, адгезиолизис и назоинтестинальная интубация с гладким течением послеоперационного периода. Осложнения после эндоскопического вмешательства

(кровотечение на 3-и и 4-е сутки после эндоскопической резекции гамартом Пейтца—Егерса) возникло у 2 (5,1%) из 39 пациентов. Кровотечение было остановлено с помощью АПК и клипирования. Летальность составила 0,4% (1/221). Умер 1 неоперированный пациент в возрасте 85 лет с недифференцированным раком тощей кишки IV стадии.

Отдаленные результаты диагностики и лечения изучены у 147 (66,8%) из 220 больных, доступных контакту: у 70 (47,6%) мужчин и 77 (52,4%) женщин в возрасте от 18 до 89 лет (средний 50,4±17,7 года) в период наблюдения от 8 мес до 10 лет (в среднем 4,5±2,4 года). Проанализировано состояние 119 (73,4%) из 162 больных с источниками ЖКК в тонкой кишке; 17 (80,9%) из 21 больного с источниками ЖКК, исходно верифицированными в верхних/нижних отделах ЖКТ; 11 (28,9%) из 38 больных с исходно не обнаруженным источником ЖКК. Признаки рецидивного кровотечения были зафиксированы у 22 (14,9%) из 147 пациентов.

Рецидив кровотечения не зафиксирован у 104 (87,4%) из 119 пациентов с верифицированным ТКК в тонкой кишке; рецидив кровотечения в средние сроки 19,7±9 мес отмечен у 15 (12,6%) пациентов. Из 42 (65,6%) больных с сосудистыми мальформациями тонкой кишки (n=64), являющимися источником ТКК, безрецидивное течение заболевания отмечено у 31 (73,8%). Рецидив кровотечения в среднем через 25,6 ± 6,1 мес после выписки из стационара, развился у 11 (26,2%) пациентов: явного — у 4 (36,3%), скрытого — у 7 (63,7%). При этом у 10 из 11 пациентов источник рецидивного кровотечения вновь был расположен в тонкой кишке, у 1 пациента источником кровотечения явилась дивертикулярная болезнь толстой кишки, осложненная дивертикулитом. Сосудистые мальформации тонкой кишки вновь послужили источником ТКК у 8 (19,0%) из 42 пациентов, в том числе продолжающегося кровотечения на момент осмотра у 2 из них. Вновь возникшие ангиоэктазии выявлены в 7 из 8 случаев (единичные — 6, множественные — 1), а ранее выявленные множественные венозные мальформации были повторно диагностированы в 1 случае. Эндоскопический гемостаз успешно выполнен у 3 (37,5%) из 8 пациентов; консервативная терапия, включающая препараты железа, назначена 5 (62,5%) пациентам. Опухоли тонкой кишки, пропущенные при первичном обследовании, были выявлены при возникновении рецидива кровотечения у 2 (4,7%) из 42 пациентов; им проведено радикальное оперативное лечение. Множественные нейроэндокринные опухоли подвздошной кишки (*n*=1) Grade I, pT3, N1(4/13), L1, V0, R0 изначально были пропущены при ВКЭ, выполненной нетиповой видеокапсулой («Capsovision», США) с боковым обзором камер. ГИСО подвздошной кишки (*n*=1) с экстраорганным ростом, размерами 60×40 мм со стороны просвета кишки изначально выглядела как 3-миллиметровая сосудистая структура **(рис. 4)**.

Из 34 (80,9%) больных с опухолями тонкой кишки (n=42) признаки рецидива ТКК и самой опухоли не отмечены у 30 (88,2%). Рецидив скрытого ТКК выявлен у 4 (11,8%) пациентов. При

этом жалобы на незначительную слабость, возникшие в среднем через 30,2±6,7 мес после лечения, предъявляли 3 из них, на болевой синдром в нижних отделах живота — 1. Анемия легкой степени была имелась у всех 4 больных. При обследовании в ходе БАЭ у 3 пациентов выявлены множественные гамартомы Пейтца—Егерса размерами от 15 до 30 мм с участками изъязвления (среднее время возникновения рецидива ТКК после первичного эндоскопического удаления составило 33 мес). Всем пациентам успешно выполнена эндоскопическая резекция гамартом. Язва энтероэнтероанастомоза, возникшая через 24 мес после резекции участка подвздошной кишки с множественными нейроэндокринными опухолями, выявлена у 1 пациента. В связи с его отказом от оперативного лечения рекомендована консервативная терапия.

Из 38 (90,4%) больных с эрозивно-язвенными поражениями (n=42) тонкой кишки жалоб не предъявляли 36 (94,7%); болевой синдром в эпигастрии отмечали 2 (5,3%) больных с болезнью Крона. Эпизоды рецидива кровотечения и падения уровня гемоглобина не отмечены ни у кого. Из 5 (83,3%) прооперированных больных с дивертикулами (n=7) тонкой кишки безрецидивное течение с сохранением уровня гемоглобина в пределах нормы отмечено у всех больных.

Из 17 (71,4%) больных с источником кровотечения, верифицированном в верхних или нижних отделах ЖКТ (n=21), безрецидивное течение отмечено у 15 (88,3%). Рецидив явного ТКК был отмечен в 2 (11,7%) случаях. Источником перенесенного кровотечения у 1 больной считали тубулярно-ворсинчатую аденому вертикального отдела двенадцатиперстной кишки (ДПК), ей была выполнена эндоскопическая полипэктомия. Через 24 мес в связи с развитием массивного рецидивного кишечного кровотечения выполнена ВКЭ, заподозрен дивертикул Меккеля. Диагноз верифицирован во время оперативного вмешательства, выполнена клиновидная резекция. У другого больного с множественными ангиоэктазиями тела желудка и сосудистой мальформацией в крае парапапиллярного дивертикула ДПК через 18 мес после эндоскопического гемостаза ангиоэктазий желудка возникла клиническая картина рецидивного явного ЖКК. По данным обследования, причиной кровотечения являлась фистула между ДПК и гастродуоденальной артерией, выполнена селективная ангиография и эмболизация с последующим безрецидивным течением.

Из 11 (28,9%) пациентов с первично невыявленным источником кровотечения (n=38) безрецидивное течение отмечено у 5 (45,5%). Рецидив явного кровотечения диагностирован у 6 (54,5%) больных в среднем через 17±15 мес после выписки из стационара. Источником кровотечения у 4 пациентов явился геморрой, назначено консервативное лечение. Изъязвленные ГИСО верхней трети тела желудка и тощей кишки выявлены у 1 пациента в ходе ЭГДС, выполненной через 4 года после многократного обследования, включающего ЭГДС и колоноскопии в других ЛПУ, и ВКЭ, выполненную в нашей клинике. Выполнены

лапароскопическая гастрэктомия, резекция сегмента тощей кишки с формированием эзофагоэнтероанастомоза. Еще у 1 пациента истинный источник 4-ды рецидивировавшего в течение 24 мес кровотечения — аортодуоденальный свищ — диагностирован лишь на секции (смерть наступила на 5-й день госпитализации от ОНМК, на фоне геморрагического шока и тяжелой анемии).

Выводы. Полученные результаты показали высокую эффективность ВКЭ и БАЭ в диагностике и лечении тонкокишечного кровотечения. Активно-дифференцированная тактика ведения этой категории больных позволила верифицировать источник кровотечения у 82,8% пациентов, определить рациональную лечебную тактику, оперируя 29,3% больных, в том числе 42,8% из них — малоинвазивно. В отдаленном периоде методики ВКЭ и БАЭ позволили выявить источники ТКК у 14 (63,6%) из 22 пациентов с рецидивом кровотечения: 13 пациентов с ранее выявленными источниками ТКК в тонкой кишке и 1 пациента с изначально выявленным источником кровотечения в верхних отделах ЖКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gomes C, Pinho R, Ponte A, Estevinho MM, Carvalho J. Timing of enteroscopy in overt-obscure gastrointestinal bleeding: a systematic review and meta-analysis. Rev Esp Enferm Dig. 2021;113(9):656-669.
2. Murphy B, Winter D.C, Kavanagh D.O. Small Bowel Gastrointestinal Bleeding Diagnosis and Management — A Narrative Review. Front Surg. 2019; 6:1-9.
3. Fisher L.R., Krinsky L. Anderson M.A. et al. The role of endoscopy in the management of obscure GI bleeding. // Gastrointestinal Endoscopy. 2010;72 (3): 471-479.
4. Pennazio M., Eisen G., Goldfarb N. ICCE Consensus for Obscure Gastrointestinal Bleeding. // Endoscopy. 2005; 37 (10): 1046-1050.
5. Lewis B.S. Enteroscopy. // Gastrointestinal Endoscopy Clin. Of NA. 2000; 10: 101-106.
6. Nawaz A. et al. Chronic gastrointestinal bleeding of obscure origin: diagnosis and management. // Hospital Physician. 2001 (2001): 48-53.
7. Gerson LB, Fidler JL, Cave DR, Leighton JA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and management of small bowel Bleeding. Am J Gastroenterol. 2015; 110:1265-1287.

Рисунки и подрисуночные подписи

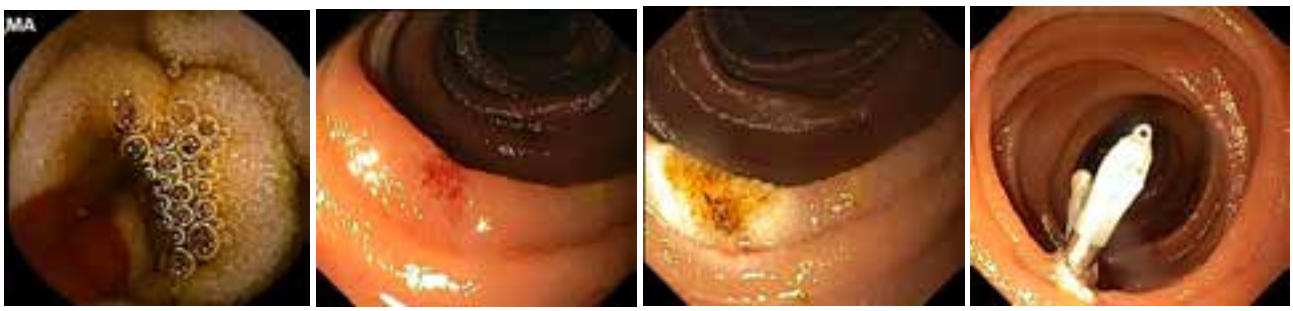


Рис.1. Ангиоэктазия тощей кишки – источник тонкокишечного кровотечения.

А - ВКЭ: признаки продолжающегося кровотечения в тощей кишке. Б - БАЭ: ангиоэктазия, без признаков кровотечения на момент осмотра – источник рецидивных ТКК. В - Аргоно-плазменная коагуляция ангиоэктазии. Г – Клипирование ангиоэктазии.

Рис.2. ГИСО тощей кишки – источник тонкокишечного кровотечения.

А – ВКЭ: подозрение на СубЭО. Б – БАЭ. В – Операционный макропрепарат: резецированный участок тощей кишки, несущий опухоль.

Рис.3. Дивертикул Меккеля – источник тонкокишечного кровотечения. А – ВКЭ. Б – БАЭ, извлечение видеокапсулы. В – Операционный макропрепарат: резецированный участок подвздошной кишки, несущий дивертикул Меккеля.

Рис.4. Гастроинтестинальная стромальная опухоль тощей кишки – источник рецидивных ТКК
А – БАЭ, клипирование ангиоэктазии тощей кишки. Б – Лапароскопия, экстраорганная опухоль тощей кишки. В – Операционный макропрепарат: резецированный участок тощей кишки, несущий опухоль.

Публикация по материалам доклада **«Возможности усиления потенциала остеорегенерации с использованием магниевых имплантатов с ТХЭ покрытием»** для Всероссийского Форума молодых учёных «Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра» к 300-летию РАН.

Авторы: Романюк Полина Владимировна, Угай Людмила Григорьевна, Невзорова Вера Афанасьевна, Гнеденков Андрей Сергеевич.

Введение. Актуальной задачей современной травматологии и ортопедии является быстрое и эффективное восстановление повреждений костной ткани. Широко используемые в качестве фиксаторов имплантаты из различных материалов позволяют значительно улучшить результаты лечения переломов и сформировать достаточный реабилитационный потенциал для восстановления утраченных функций кости [1]. Одной из проблем при установке имплантатов является необходимость извлечения конструкции после восстановления целостности кости, что требует, как оценки всех возможных рисков повторного хирургического вмешательства, так и не всегда может быть полностью успешным [1]. В соответствии с требованиями времени в травматологии сформировано направление по моделированию изучения возможностей использования биодеградируемых имплантатов [2]. Наиболее привлекательным материалом, предполагающим полную резорбцию после завершенной консолидации костной ткани, сегодня являются магниевые сплавы, имеющие биосовместимость и механические свойства, подобные человеческой кости[3]. Несмотря на несомненные преимущества, магниевые имплантаты крайне подвержены коррозионным процессам, что приводит к риску преждевременной утраты его прочности до завершения консолидации поврежденной костной ткани. Перспективным путем угнетения скорости коррозии магния является создание поверхностного антикоррозионного покрытия, формирующего баланс между регенерацией костной ткани и интенсивностью резорбции магниевого имплантата [2]. Создание на поверхности имплантата антикоррозионного и биологически активного слоя, способного замедлить коррозию, форсирует процесс регенерации кости, позволяя имплантату постепенно замещаться костной тканью de novo. Создание биологически активного покрытия, являющегося также антикоррозионным и защитным – важная научная и практической задача, решение которой значительно усовершенствует процессы имплантационной хирургии с применением перспективных биодеградируемых покрытий.

Оперативное лечение переломов на фоне утраченной плотности костной ткани требуют минимизации возможных повторных вмешательств, и соответственно, оценка эффективности

использования биодеградируемых имплантатов в обозначенной клинической ситуации представляет особый интерес [4].

Целью нашей работы является изучение особенностей репаративного потенциала костной ткани при остеосинтезе перелома диафизарной части бедра у крыс линии Вистар с моделью остеопороза с использованием биодеградируемых имплантатов из магниевого сплава с защитным покрытием. Формируемые антикоррозионные слои включали гидроксиапатитсодержащий слой, который дополнительно модифицировали биоинертным полимером – ультрадисперсным политетрафторэтиленом (УПТФЭ). Для сравнения были исследованы образцы из магниевого сплава с гидроксиапатитсодержащим покрытием без обработки полимером.

Материалы и методы. Нами исследованны ткани бедренной кости 26 белых лабораторных крыс-самцов Вистар , с масой тела от 180 до 240 г. На 24 животных создана модель остеопороза. В течение 14 дней внутрижелудочно вводился преднизолон в дозе 50 мг/кг в условиях ингаляционной эфирной анестезии. Далее, на созданных моделях , в условиях общей анестезии (золетил 40 мг/кг веса внутрибрюшинно) был выполнен закрытый перелом диафиза бедренной кости в асептических условиях

Нами были сформированы 3 группы животных , по 6 особей в каждой. Первая группа представлена животными, у которых не был испозьзован имплантат для фиксации области перелома, эта группа использовалась в данном исследовании в качестве сравнения. Животным второй и третьей групп в условиях общей анестезии (золетил 40мг/кг массы внутрибрюшинно) выполнен закрытый интрамедуллярный ретроградный остеосинтез.

Имплантат из магниевого сплава МА8 (система Mg-Mn-Ce) с кальций-фосфатным гидроксиапатитсодержащим ПЭО-покрытием [5], использован для остеосинтеза во второй группе. Магниевый имплантат с композиционным покрытием, содержащим ПЭО-слой, модифицированный УПТФЭ (торговая марка «Форум®») был установлен в области перелома кости в третьей группе животных. УПТФЭ был получен из продуктов пиролиза фторопласта Ф-4 по технологии термоградиентного синтеза [6], разработанной к.х.н. А.К. Цветниковым и А.А. Уминским в ИХ ДВО РАН.

Для подтверждения наличия остеопороза у крыс опытной группы использовали двух здоровых особей. Животных выводили из эксперимента на 14, 30 и 60-й день после операции.

Срезы костей в области перелома и поясничных позвонков окрашивали гематоксилином и эозином (ГЭ) с последующей морфологической оценкой состояния костной ткани. Морфометрические показатели рассчитывали с помощью программы ZEN. Окрашенные гистологические препараты изучали на микроскопе OLYMPUS BX41. Микрофотографирование

проводили с помощью компьютерной программы Levenhuk-ToupView-CD-2015-11. Анализ полученных изображнний выполнен в компьютерной программе "ImageJ".

Нами проанализированы следующие показатели :

1. Показатели количества костной ткани (объемная плотность трабекул) с оценкой минерализации костной ткани, остеоида и минерализованного объема (Tb.V,%) и ширины кортикального слоя (CWμm);

2. Показатели архитектоники отломков кости (толщина трабекул, Tb.Th., мкм);

3. .Показатели остеобразования (средняя толщина слоев остеоида - O.Th., мкм, количество остеобластов-N.Ob.);

4. Поазатели резорбции - эрозированная поверхность (ES,%) и количество остеокластов (N.Oc.).

ИГХ с антителами к CD31 (эндотелиальный фактор неоангиогенеза) использовалась для оценки ангиогенеза, а резульаты оценивали полуколичественным методом по интенсивности окрашивания, а также раскрывали в баллах. Оценен диаметр сосудов, с анализом капилляров, артериол и венул, вычисленна объемная плотность микрососудов по морфометрической сетке А.Г. Автандилова с числом пересечений 289 [7]. Расчет сосудов проводили при увеличении объектива - х200, с последующей нормализацией их количества на единицу площади.

Результаты и обсуждение. Итогом обработки микроскопического исследования гистологического материала явились следующие фотографии.

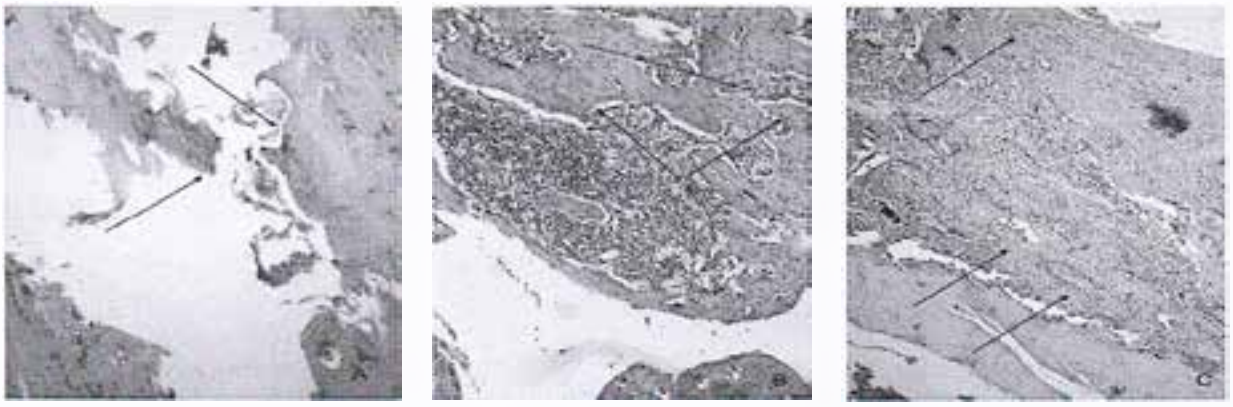


Рисунок 1. ГЭ × 100. Костная ткань крысы в области перелома диафиза бедренной кости на 14-й день эксперимента: (А)-крыса без имплантата; (В)-крыса с магниевым имплантатом с ПЭО-покрытием; (С)-крыса с магниевым имплантатом с композиционным покрытием.

В дальнейшем соответствие групп на каждом фото сохраняется.

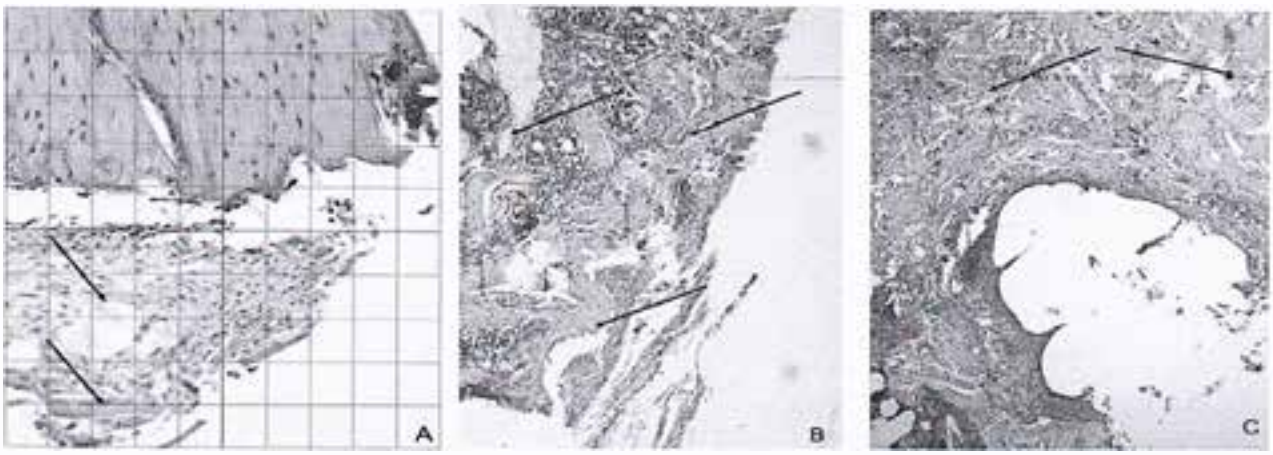


Рисунок 2. ГЭ × 100. Костная ткань крысы в области перелома диафиза бедренной кости на 30-й день эксперимента.

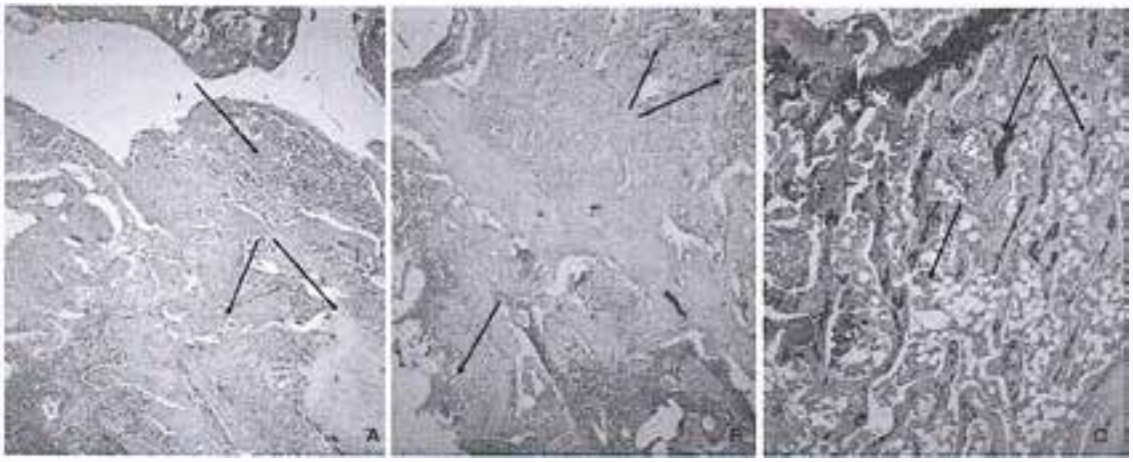


Рисунок 3. ГЭ × 100. Костная ткань крысы в области перелома диафиза бедренной кости на 60-й день эксперимента.

По результатам исследования, изменения на 14-й день характеризовались снижением плотности костной ткани за счет увеличения резорбции во всех группах. В 1-ой же группе было зафиксировано незначительное восстановление объема поврежденной кости.

На 30-е сутки разница в морфологической картине костной ткани у животных трёх групп несколько изменилась. В 1-й группе поврежденный участок был заполнен ретикулярной тканью с микрофокусами остеоида. Во 2-ой-костные дефекты полностью заполнена ретикулярной тканью. В 3-ей группе отмечалось формирование костных балок.

На 60-й день эксперимента костный дефект был заполнен ретикулярной тканью, основная часть которой наблюдалась в 1-ой группе. Среди фиброзной ткани располагались костные пластинки. Тем не менее, на этом фоне были выявлены зоны несовершенного остеогенеза. Во 2-ой и 3-ей группах участки практически восстановлены и представлены пластинчатой костной тканью с остеонами и Гаверсовыми каналами. Губчатое вещество

трансформируется в компактное, увеличивается CW. Отмечена активность единичных остеокластов. ES практически не определялась. Очаги минерализации были зафиксированы.

Важнейшим компонентом репарации костной ткани считается неоангиогенез, обеспечивающий оксигенацию и миграцию клеток, способных, в дальнейшем дифференцироваться в остеобласты [8]. Для оценки ангиогенеза мы использовали показатель средней объемной плотности сосудов. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица1. Параметры морфометрии бедренной кости крыс с переломом диафиза кости.

		14 день эксперимента			30 день эксперимента			60 день эксперимента		
Показатель	Крысы с моделью остеопороза (группа контроля) n= 6	Группа 1 n=2	Группа 2 n=2	Группа 3 n=2	Группа 1 n=2	Группа 2 n=2	Группа 3 n=2	Группа 1 n=2	Группа 2 n=2	Группа 3 n=2
CW (ширина кортикального слоя) (мкм)	146,2±0,3	129,7±3,4	136,6±4,5	152,5±4,9 #	133,2±5,3	138,3±2,9*	142,9±3,0*	134,1±5,5	146,8±1,9*	150,3±8,6*
TT (толщина трабекул) (мкм)	53,3±2,2	55,3±4,4	56,8±7,6	54,8±6,3	44,5±1,7	47,8±7,6	57,3±8,1	49,7±1,3	69,4±1,7	67,6±4,1
N. Ob (количество остеобластов) (в мм^2)	9,1±0,7	4,6±1,07	3,8±0,97	9,2±1,77	3,2±0,89	4,4±2,4	14,6±2,1	3,4±1,4	6,4±2,4	11,6±2,1
ES (эрозированная поверхность) %	4,7±2,1	6,9±3,4	6,6±1,3	6,0±3,1	17,3±4,3	14,3±4,4	6,8±3,6#	16,4±3,1	6,1±2,8	4,6±2,4
N. Oc (количество остеокластов) (в мм2)	1,8±1,3	5,2±1,7	2,8±1,2	3,6±1,1	6,3±1,4	7,3±5,2	3,4±0,7	5,8±0,9	4,5±1,8	1,8±0,1
Средняя объемная плотность сосудов%	13,2 ± 1.9	13,67±1,003	18,1±1,78	22,8±1,46	14,7±1,6	21,9±2,03	26,4±3,2	15,1±1,7	23,3±2,4	29,6±3,7

Согласно полученным данным, уже на 14-е сутки средняя объемная плотность сосудов в 3-ей группе животных выше по сравнению с 1-ой и 2-ой группами. Эта тенденция сохраняется на 30-е и 60-е сутки исследования.

Аналогичная картина наблюдалась и для других параметров. Показатели ширины кортикального слоя (CW) на 14 день превышают аналогичные значения в контрольной группе. При этом , в третьей группе показатели CW к 60-му дню в третьей группе демонстрируют максимальные значения. У животных 2-ой группы этот параметр достигает значений контрольной группы только к 60 дню. Полученные данные демонстрируют, что более благоприятные условия для регенарции кости создает антикоррозийное УПТФЭ-содержащее покрытие . В первой группе показатели CW не достигли значений контрольной группы к 60 суткам.

Количество остеобластов (N.Ob) на 14-е сутки в 1-ой и 2-ой групп были меньше контрольных. И только к 60-му дню во 2 группе N.Ob приближается к контрольному. Через 14 дней значения N.Ob в 3-ей превышают значения второй и контрольной групп.

Анализ изменений параметров TT, ES и Noc показывает их более сложную динамику. К 60-м суткам параметр TT выравнивается во 2-ой и 3-ей группах. Предположительно, модификация ПЭО-слоя полимером не является критичным. Формирование кальций-фосфатного ПЭО-слоя оказывает более существенное влияние на его динамику. Параметр Noc сохраняет постояннство во всех трех группах , имея значения, близкие к контрольной группе. Оба показателя в группе сравнения превышают значения контрольной группы уже на 30-й день.

Заключение. Полученные нами данные позволяют предполагать, что применение биодеградируемых имплантатов из магниевого сплава с гидроксиапатитсодержащим ПЭО-покрытием, модифицированным УПТФЭ, способствует более эффективной и гармоничной реализации регенераторного потенциала костной ткани и ее окружения в сложных условиях остеопороза Применение магниевых имплантатов с ПЭО-покрытием, не содержащим полимерного материала, также привело к ускорению регенерации кости по сравнению с группой без использования имплантатов. Механизмы форсирования регенераторной способности кости при наличии дополнительного полимерного защитного слоя требуют изучения. Одним из возможных вариантов реализации эффекта покрытия может быть полученный в нашем исследовании более выраженный ангиогенез в месте перелома у данной группы животных, о котором свидетельствуют показатели средней объемной плотности сосудов. Стоит отметить, что перенос данных о процессах остеорегенерации, полученный в в эксперименте на крысах, на человека ограничен. Однако полученные результаты указывают на перспективность дальнейших исследований в этом направлении.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-13-00130).

Ссылки на источники:

1. Попов В.П. Лечение переломов плечевой кости с применением биоактивных и биоинертных имплантатов // Бюллетень сибирской медицины. - 2012. - № 11(6). - Стр. - 160-165.

2. Попков А.В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы) // Гений ортопедии. - 2014. - № 3. - Стр. - 94-99.

3. Kannan M.B., Raman R.K. In vitro degradation and mechanical integrity of calcium-containing magnesium alloy in modified simulated body fluid // Biomaterials. – 2008 May;29(15):2306-14

4. Jin Hwan Kima, Ye-Soo Parkb, Kwang Jun Ohc, Han Seok Choida Surgical treatment of severe osteoporosis including new concept of advanced severe osteoporosis // Osteoporosis and Sarcopenia. - 2021. - № 7. - Issue 3. -Vol. - 89-120.

5. S.V. Gnedenkov, S.A. Sinebryukhov, O.A. Khrisanfova, A.G. Zavidnaya, V.S. Egorkin, A.V. Puz, V.I. Sergienko. Calcium phosphate coatings on resorbable magnesium implants // Bulletin of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. – 2011. - № 5. – Vol. - 88 -96

6. Tsvetnikov A.K., Uminsky A.A., Kulikov A.P., Falaleev O.F. Study on intercalation of platinum hexafluoride in thermoexpanded graphite.VI Int. Symp. Intercal. Comp // Material Science Forum. – 1992. – Vol. - 91/ 92, 107-111

7. G. G. Avtandilov, N. I. Yabluchanskii, V. G. Gubenko. Planimetric grids for macroscopic and microscopic stereological investigations // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1977. - № 01. – Vol. - 83. – Iss 1. -Vol. - 1-83

8. Kurt D Hankenson 1, Michael Dishowitz, Chancellor Gray, Mara Schenker. Angiogenesis in bone regeneration // Injury. – 2011. – Vol 42. - Iss 6. - Vol. - 556-561

Авторы работы:

Романюк Полина Владимировна /П.В. Романюк

Угай Людмила Григорьевна /Л.Г. Угай

Невзорова Вера Афанасьевна /В.А. Невзорова

Гнеденков Андрей Сергеевич /А.С. Гнеденков

МЕТОД ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ COVID-19 НА ОСНОВЕ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА КАШЛЯ

С.Н. Фейгельман, А.В. Будневский, Е.С. Овсянников
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

Цель: оценить возможность применения спектрального анализа кашля как метода экспресс-диагностики COVID-19

Введение

Новая коронавирусная инфекция COVID-19 – это острая респираторная инфекция, вызываемая РНК-содержащим вирусом SARS-CoV-2 и проявляющаяся следующими симптомами: лихорадка (99%), астеновегетативная симптоматика (70%), сухой кашель (59%), анорексия (40%), миалгия (35%), одышка (31%) [1]. В настоящее время основными методами диагностики данного заболевания являются ПЦР мазков из носа- и ротоглотки, иммунохроматографические исследования, выявление специфических иммуноглобулинов в крови. Вспомогательными методами диагностики являются: общий анализ крови, биохимический анализ крови, С-реактивный белок, коагулограмма, пульсоксиметрия, электрокардиография, КТ легких, УЗИ легких и плевральных полостей [2]. К сожалению, довольно часто выполнение описанных выше диагностических мероприятий является недостаточным для своевременной и правильной постановки диагноза, что ухудшает дальнейший прогноз. Во всем мире активно ведутся исследования по поводу возможности применения спектрального анализа кашля в диагностике различных заболеваний, в том числе COVID-19. Melek Manshouri N. и соавт., а также Nguyen L.H. и соавт. описали два различных метода выявления COVID-19 при помощи нейронных сетей, берущих за основу именно спектральный анализ звуков кашля [3, 4].

Материалы и методы

В основную группу вошли 218 пациентов (средний возраст 40 лет), из которых 49%– мужчины, 51% - женщины, находящихся в БУЗ ВО «ВГКБ №2 им К. В. Федяевского» в период с сентября по декабрь 2021 г. на стационарном лечении в ковидном отделении с подтвержденным диагнозом «Новая коронавирусная инфекция COVID-19». У всех было среднетяжелое течение заболевания, отсутствовали сопутствующие хронические заболевания дыхательной системы, а поражение легочной паренхимы на компьютерной томограмме составляло не более 25%.

Группу сравнения составили 60 здоровых лиц (средний возраст 42 года), из которых 50% - мужчины и 50% - женщины. У них не был выявлен SARS-CoV-2 при ПЦР-исследовании мазков носо- и ротоглокти, предшествующие хронические респираторные заболевания отсутствовали.

Испытуемым обеих групп была проведена спектральная туссофонобарография – неинвазивный метод регистрации и анализа звуков кашля. Предварительно проинструктированных пациентов усаживали за стол с закрепленным на нем микрофоне так, чтобы он находился на расстоянии 15-20 см от лица, и просили покашлять с определенной силой для достижения приблизительно одинаковой амплитуды у всех пациентов. Для записи звуков использовался микрофон трансформаторного типа с полосой пропускания 60 Гц-24 000 Гц, для отфильтровывания посторонних шумов - фильтры с полосой пропускания от 60 до 6000 Гц (48 dB/октава; Баттерворда) [5].

При наличии спонтанного кашля производилась его регистрация, при отсутствии такового проводилась индукция кашлевого рефлекса при помощи ингаляций раствора лимонной кислоты в концентрации до 20 г/л через небулайзер [6].

Полученные записи обрабатывались в компьютерной программе Sound Forge 15 (MAGIX Software GmbH., Germany) следующим образом:

- Громкость была нормализована до 6 Дб;
- Была установлена частота сэмплирования 48 000 Гц;
- Каждый кашлевой эпизод был разделен на отдельные фазы по принципу, представленному на рисунке 1.

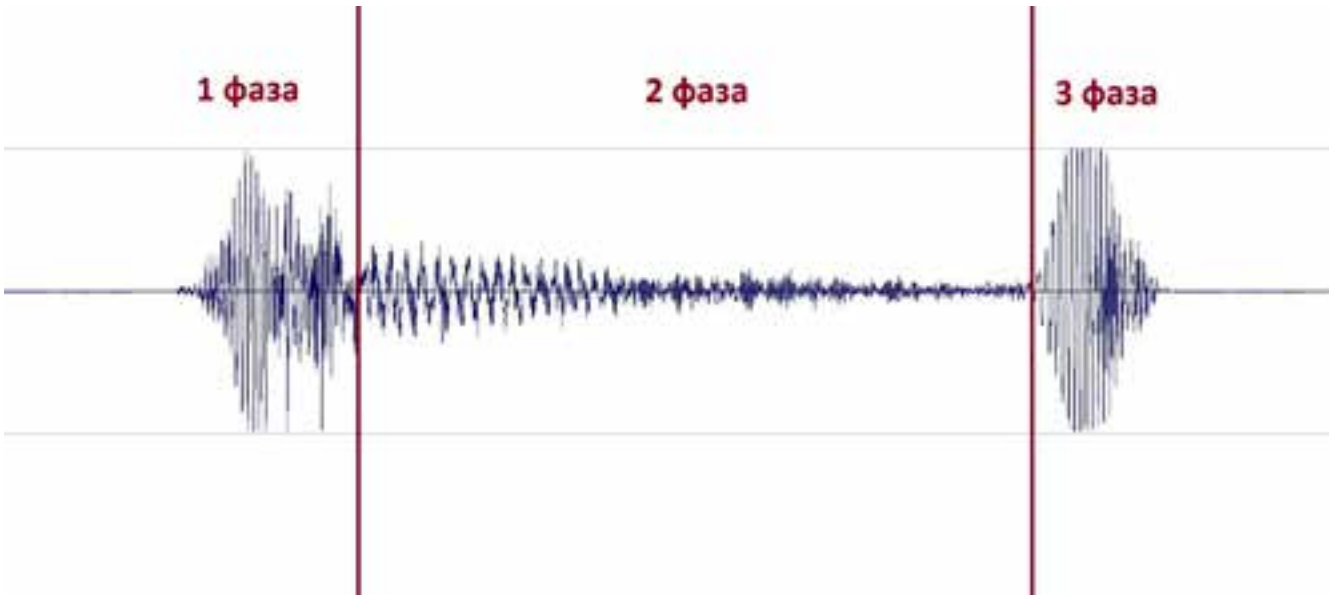


Рис. 1. Принцип разделения аудиограммы кашля на отдельные фазы

Данное разделение основано на биомеханических процессах, происходящих во время кашля. Первая фаза соответствует резкому глубокому вдоху при открытой голосовой щели. Во время второй фазы значительно увеличивается внутригрудное давление, после чего голосовая щель открывается и происходит вытеснение потока воздуха из дыхательных путей с высокой скоростью. Третья фаза является непостоянной и отсутствует у 10-20% пациентов, она характеризуется возникновением задержкой воздуха после закрытия голосовой щели, что способствует вибрации голосовых связок, проявляющейся характерным звуком.

После этого все записи были подвергнуты алгоритму быстрого преобразования Фурье, который позволяет распределить энергию звука по частотам. Оценивались продолжительность (T) и частота максимальной энергии звука (Fmax), коэффициент Q кашлевого эпизода полностью и отдельно каждой фазы [7].

Статистическая и математическая обработка данных осуществлялась в пакете программ STATGRAPHICS Centurion 18 (Statgraphics Technologies, Inc., USA). Показатели эксцесса и ассиметрии были вне диапазона (-2; +2), поэтому распределение вариант выборки не соответствовало нормальному. Для сравнительного анализа использовался ранговый U-тест Манна-Уитни. Численные значения исследуемых параметров представлены в виде медиан с указанием в скобках верхних и нижних квартилей. При p менее 0,05 различия считались статистически значимыми.

Результаты

Данные сравнительного анализа представлены в таблице 1.

Параметр	Основная группа (n=218)	Группа сравнения (n=60)	Уровень p
T, мс	342,5 (277,0; 394,0)	400,5 (359,0; 457,0)	**0,0000**
T_1, мс	45,0 (36,0; 57,0)	45,5 (37,5; 54,0)	0,9111
T_2, мс	227,5 (190,0; 274,0)	264,0 (203,0; 326,5)	**0,0095**
T_3, мс	81,0 (61,0; 113,0)	103,5 (72,0; 133,0)	**0,0046**
Q	0,3095 (0,223; 0,454)	0,4535 (0,3725; 0,619)	**0.0000**
Q_1	0,392 (0,261; 0,564)	0,4565 (0,329; 0,7415)	**0,0183**
Q_2	0,2035 (0,121; 0,313)	0,295 (0,2225; 0,414)	**0,0000**
Q_3	0,736 (0,479; 1,174)	1,0065 (0,7745; 1,2115)	**0,0005**
Fmax, Гц	463,0 (274,0; 761,0)	347 (253,0; 488,0)	**0,0013**
$Fmax_1$, Гц	440,0 (284,0; 619,0)	397,5 (266,5; 555,0)	0,1862
$Fmax_2$, Гц	851,0 (374,0; 1507,0)	711,0 (202,5; 1519,0)	0,0764
$Fmax_3$, Гц	313,0 (240,0; 400,0)	318,5 (226,0; 431,5)	0,6109

Таблица 1. Данные сравнительного анализа временно-частотных характеристик звуков кашля у здоровых лиц и больных COVID-19. *Примечание:* T, T1, T2, T3 - общая продолжительность кашлевого акта и каждой фазы в отдельности; Q? Q1, Q2, Q3 - отношение энергии низких и средних частот (60-600 Гц) к энергии высоких частот (600-6000 Гц) всего кашлевого акта и каждой фазы в отдельности; Fmax,

Fmsx1, Fmax2, Fmax3 - частота максимальной энергии всего звука кашлевого акта и каждой фазы в отдельности.

По данным таблицы, кашель больных COVID-19 отличается от такового у здоровых лиц более низкой продолжительностью и частотой, что можно использовать в диагностике.

Нами было разработана прогностическая модель, основанная на уравнении множественной регрессии, куда были подставлены полученные значения, за исключением показателей 3-й фазы, так как она присутствовала не у всех испытуемых.

Если после проведения необходимых вычислений и округления результата до целых, Y был равен «0», то COVID-19 отсутствовал. Соответственно, при Y равном «1» определялось наличие COVID-19 у конкретного испытуемого [12].

$$\boldsymbol{Y = \frac{e^{reg}}{1 + e^{reg}}}$$

где reg = -88,7576 - 0,519581*T + 2,53078*T1 + 0,730702*T2 + 184,136*Q + 20,9326*Q1 - 91,6469*Q2 + 0,141838*Fmax - 0,0363499*Fmax1 + 0,00409225*Fmax2 - 0,0000720845*T^2 + 0,00159507*T*T1 + 0,00194451*T*T2 + 0,85427*T*Q - 0,474393*T*Q1 - 0,597649*T*Q2 - 0,000322988*T*Fmax + 0,000271569*T*Fmax1 - 0,0000125667*T*Fmax2 - 0,00227204*T1^2 - 0,00467295*T1*T2 - 5,53114*T1*Q + 1,90685*T1*Q1 + 1,89723*T1*Q2 - 0,000221993*T1*Fmax - 0,000472206*T1*Fmax1 - 0,000266677*T1*Fmax2 - 0,00187947*T2^2 - 1,39386*T2*Q + 0,317866*T2*Q1 + 0,894015*T2*Q2 - 0,0000675111*T2*Fmax - 0,000165248*T2*Fmax1 - 0,0000421008*T2*Fmax2 - 59,636*Q^2 + 240,242*Q*Q1 + 59,7047*Q*Q2 - 0,135556*Q*Fmax + 0,0577676*Q*Fmax1 + 0,00293814*Q*Fmax2 - 28,8388*Q1^2 - 257,268*Q1*Q2 + 0,00585586*Q1*Fmax - 0,03006*Q1*Fmax1 + 0,00977002*Q1*Fmax2 + 80,345*Q2^2 + 0,186628*Q2*Fmax - 0,036913*Q2*Fmax1 - 0,0184737*Q2*Fmax2 + 0,0000320108*Fmax^2 - 0,0000551759*Fmax*Fmax1 + 0,0000213366*Fmax*Fmax2 + 0,000011152*Fmax1^2 + 0,00000588814*Fmax1*Fmax2 + 0,00000324033*Fmax2^2.

В таблице 2 указаны результаты верификации прогностической модели.

Группа обследованных	Диагноз по модели	
	COVID-19	Здоровые лица
Больные COVID-19 (n=218)	214 чел. (98,2%)	4 чел. (1,8%)
Здоровые лица (n=60)	4 чел. (6,7%)	56 чел. (93,3%)

Таблица 2. Результаты верификации прогностической модели

Чувствительность метода составила 98,2%, специфичность – 93,3%.

Обсуждение

Несвоевременная диагностика COVID-19 может способствовать развитию множества осложнений и ухудшению течения сопутствующих хронических заболеваний. Могут возникнуть различные аритмии, значительно декомпенсироваться сердечная недостаточность и ишемическая болезнь сердца, вплоть до инфаркта миокарда, острый респираторный дистресс-синдром, ДВС-синдром, организующаяся пневмония и очаговый фиброз, неврологические и психические расстройства [9].

Заключение

Спектральная туссофонобарография является перспективным методом диагностики различных заболеваний, не только COVID-19, так как методика достаточно эффективна, безопасна и не требует проведения сложных манипуляций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang D., Hu B., Hu C. et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China // JAMA. – 2020. – Vol. 11. –N. 323. – P. 1061-1069. DOI: 10.1001/jama.2020.1585.
2. Qasem A., Shaw A.M., Elkamel E. et al. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Diagnostic Tools: A Focus on Detection Technologies and Limitations // Curr Issues Mol Biol. – 2021. – Vol. 2. – N. 43. – P. 728-748. DOI: 10.3390/cimb43020053.
3. Melek Manshouri N. Identifying COVID-19 by using spectral analysis of cough recordings: a distinctive classification study // Cogn Neurodyn. – 2022. – Vol. 1. - N. 16. – P. 239-253. DOI: 10.1007/s11571-021-09695-w.
4. Nguyen L.H., Pham N.T., Do V.H. et al. Fruit-CoV: An efficient vision-based framework for speedy detection and diagnosis of SARS-CoV-2 infections through recorded cough sounds // Expert Syst Appl. – 2023. – N. 213. – P. 119212. DOI: 10.1016/j.eswa.2022.119212.
5. Будневский А.В., Авдеев С.Н., Овсянников Е.С. и др. Спектральный анализ звуков кашля у больных COVID-19 // Пульмонология. – 2022. – Т. 6. - № 32. – С. 834–841. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-6-834-841.
6. Morice A.H., Kitt M.M., Ford A.P. et al. The effect of gefapixant, a P2X3 antagonist, on cough reflex sensitivity: a randomised placebo-controlled study // Eur Respir J. – 2019. –Vol. 1. – N. 54. – P. 1900439. DOI: 10.1183/13993003.00439-2019.
7. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. RU 202266539, 15.08.2022.
8. Патент РФ на изобретение. RU 2776535, 21.07.2022.
9. Абдурахимов А.Х., Хегай Л.Н., Юсупова Ш.К. COVID-19 И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЯ // Re-health journal. – 2021. – Т. 12. - № 4. – С. 61-74.

АССОЦИАЦИЯ МЕЖДУ УЛЬТРАЗВУКОВЫМИ ПАРАМЕТРАМИ ЧЕТЫРЕХГЛАВОЙ МЫШЦЫ БЕДРА И НАРУШЕНИЯМИ КОСТНО-МЫШЕЧНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО И СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА С МЕТАБОЛИЧЕСКИ АССОЦИИРОВАННОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

А.Ф. Шептулина, к.м.н.[1,2], Э.М. Мамутова [1], А.А. Яфарова, Т.Т. Цориев, к.м.н.

[1]Лаборатория профилактической и экспериментальной гастроэнтерологии, Отдел фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Москва

[2]Кафедра терапии и профилактической медицины, ФГБОУ ВО "Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова" Минздрава России. Москва, Россия

Резюме

Цель: изучить распространенность и факторы, ассоциированные с развитием остеопении, остеопороза и саркопении у пациентов с МАЖБП молодого и среднего возраста, а также определить взаимосвязь ультразвуковых параметров четырехглавой мышцы бедра со стандартными критериями саркопении, наличием сниженной минеральной плотности кости (МПК) и стадией фиброза печени при МАЖБП.

Материалы и методы: В одномоментное одноцентровое исследование были включены пациенты с МАЖБП, обратившиеся в клинико-диагностическое отделение ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России в период с января 2023 г. по декабрь 2023 г., соответствующие критериям включения и не имеющие критериев невключения. Обследование с целью диагностики саркопении проводили в соответствии с алгоритмом и критериями, разработанными Европейской рабочей группой по изучению саркопении у пожилых пациентов (European Working Group on Sarcopenia in Older People). Диагностику остеопении и остеопороза выполняли двухэнергетическую абсорбционную рентгеновскую денситометрию (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, ДРА) на аппарате iDXA, компании GE LUNAR (General Electric (GE), США). Всем пациентам проводились ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, соноэластография печени с целью определения степени фиброза печени, УЗИ четырехглавой мышцы бедра с применением В-режима и соноэластографии на аппарате Philips Affiniti 70 (Philips, Амстердам, Нидерланды) с использованием соответствующих датчиков, согласно стандартным протоколам.

Результаты: Медиана возраста 63 пациентов с МАЖБП, включенных в исследование, составила 58 (51-65) лет. На долю женщин приходилось 63,5% пациентов (n=40). Количество

баллов по опроснику SARC-F ≥4, который позволяет определить симптомы саркопении, было зарегистрировано у 10 (9,2%) пациентов. Результаты кистевой динамометрии указывали на сниженную силу сжатия кисти у 14 (22,2%) пациентов. Согласно результатам ДРА, остеопения была диагностирована у 25 (39,7%) пациентов (медиана возраста 64 [минимум-максимум: 46-70] лет), а остеопороз – у 1 (1,6%) пациента (возраст 53 года, мужчина). У пациентов с остеопенией (n=25) толщина прямой и промежуточной мышц бедра справа и слева, а также упругость прямой мышцы бедра справа и слева были статистически значимо меньше, а толщина ПЖК справа и слева статистически значимо больше, чем у пациентов без остеопении (p ≤0,001 для всех). У пациентов с упругостью печени >7 кПа при УЗИ четырехглавой мышцы бедра в основном регистрировалась III ст. эхогенности четырехглавой мышцы бедра и справа (p=0,073), и слева (p=0,004). У всех пациентов со сниженной МПК, включенных в исследование на данный момент, показатели эластометрии печени находились в пределах значений, соответствующих стадии фиброза F ≥2 по шкале METAVIR.

Заключение: Нами впервые описана взаимосвязь между УЗ-параметрами четырехглавой мышцы бедра, критериями, используемыми для выявления случаев саркопении (кистевая динамометрия, опросник SARC-F, количество скелетных мышц в организме), а также показателями МПК. Результаты предварительного анализа набранных данных свидетельствуют в пользу предположения о том, что у пациентов с МАЖБП изменения, происходящие в печени в процессе естественного течения заболевания, сопровождаются сходными изменениями в скелетных мышцах, проявляющихся повышением эхогенности мышц и увеличением их жесткости/плотности.

Ключевые слова: метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени, саркопения, минеральная плотность кости, ультразвуковое исследование, эластометрия, фиброз.

Сокращения: АГ – артериальная гипертензия; АСМИ – индекс аппендикулярной скелетной мускулатуры; БИАСТ – биоимпедансный анализ состава тела; ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома; ДРА – двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия; ИМТ – индекс массы тела; ИСММ – индекс скелетно-мышечной массы; МАЖБП – метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени; МКИ – межквартильный интервал; МПК – минеральная плотность кости; НГН – нарушение гликемии натощак; ПЖК – подкожно-жировая клетчатка; СД2 – сахарный диабет 2 типа; УЗИ – ультразвуковое исследование; EASO – Европейская ассоциация по изучению ожирения; ESPEN – Европейское общество по клиническому питанию и обмену веществ; FLI - Fatty Liver Index; SARC-F – опросник для выявления случая саркопении; SPPB – краткая батарея тестов физического функционирования;

Введение

В настоящее время метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЖБП) является наиболее частой формой хронических заболеваний печени во всем мире и выходит в лидеры среди причин развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК, первичный рак печени) и показаний к трансплантации печени [1,2]. Распространенность МАЖБП в мире на сегодняшний день составляет примерно 37,8% (32,4–43,3%) [2], а заболеваемость – 46,9 случаев на 1000 пациенто-лет (36,4–57,5) [3].

Согласно результатам многочисленных исследований, МАЖБП представляет собой мультисистемное заболевание, которое характеризуется высокой частотой ассоциации с заболеваниями различных органов и систем, в частности, сахарным диабетом 2 типа (СД2) [4], хронической болезнью почек (ХБП) [5], синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) [6], заболеваниями центральной нервной системы (такими как, болезнь Альцгеймера, деменция) [7].

Учитывая перечисленные выше особенности МАЖБП, а также способность МАЖБП влиять на течение и прогноз ассоциированных заболеваний, не вызывает сомнений необходимость активного выявления этого заболевания печени, определения факторов риска его прогрессирования и разработки эффективных методов его профилактики и лечения. Однако, несмотря на большое количество исследований в данной области, в настоящее время отсутствуют лекарственные препараты, способные существенно повлиять на естественное течение МАЖБП, риск ее прогрессирования, развития осложнений и ассоциированных состояний. По-прежнему, единственной эффективной стратегией в борьбе с МАЖБП является модификация образа жизни за счет изменения пищевых привычек, рациона и режима питания, а также расширения физической активности. Вместе с этим, в последние несколько лет были получены данные о возможной взаимосвязи между МАЖБП и, в особенности между неблагоприятным прогнозом у пациентов с МАЖБП с выраженным фиброзом печени, и саркопенией (состоянием, характеризующимся уменьшением качества, количества и, как следствие, снижением функции скелетных мышц) [8,9]. С другой стороны, хорошо известно, что саркопения является фактором риска, ассоциированным с развитием остеопороза и снижением толерантности к физической нагрузке у пациентов с хроническим гепатитом С и циррозом печени [10]. Однако, данные о распространенности остеосаркопении, как и клиническое значение остеосаркопении у пациентов с хроническими заболеваниями печени другой этиологии ограничены [11].

Цель настоящего исследования состояла в изучении распространенности и факторов, ассоциированных с развитием остеопении, остеопороза и саркопении у пациентов с МАЖБП молодого и среднего возраста, а также в определении взаимосвязи ультразвуковых параметров четырехглавой мышцы бедра со стандартными критериями саркопении, наличием сниженной минеральной плотности кости (МПК) и стадией фиброза печени при МАЖБП.

Материалы и методы

В одномоментное одноцентровое исследование были включены пациенты, обратившиеся в клинико-диагностическое отделение ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» (ФГБУ «НМИЦ ТПМ») Минздрава России в период с января 2023 г. по декабрь 2023 г. В исследовании действовали следующие критерии включения:

1. мужчины и женщины ≥ 20 лет и <70 лет;

2. наличие признаков стеатоза печени при ультразвуковом исследовании (УЗИ) органов брюшной полости;

3. значение индекса – Fatty Liver Index (FLI)>60;

4. подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Все исследования проводились в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации 1964 г. Протокол исследования был одобрен локальным независимым Комитетом по Этике ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России (выписка из протокола 08-03/22 от 28.12.2022). Письменное информированное согласие на участие в исследовании было получено от всех пациентов, включенных в исследование. Пациентам, соответствующим критериям включения и не имеющих критериев невключения, были выполнены весь запланированные исследования, в том числе:

1. Сбор жалоб, анамнеза, проведение физикального осмотра, антропометрических измерений в соответствии с Методическими рекомендациями «Использование метода комплексной антропометрии в спортивной и клинической практике» ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» [12].
2. Диагностика саркопении с помощью следующих методов [13]:

   А) заполнение опросника SARC-F (Strength – сила; Assistance with walking – помощь при ходьбе; Rise from a chair – вставание со стула; Climb stairs – подъем по лестнице; and Falls – падения);

   Б) измерение мышечной силы – кистевая динамометрия на доминантной руке (проводилось по три попытки. Интервал между попытками составлял 1 минуту. Фиксировалось максимальное значение);

   В) набор тестов "Краткая батарея тестов физического функционирования" (Short Physical Performance Battery [SPPB]). Максимальное число баллов – 12;

   Г) двухэнергетическая абсорбционная рентгеновская денситометрия (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, ДРА) на аппарате iDXA, компании GE LUNAR (General Electric (GE), США.) для определения индекса аппендикулярной скелетной мускулатуры (АСМИ).

Кроме того, всем пациентам, включенным в исследование, выполнялся анализ состава тела на биоимпедансном анализаторе состава тела АВС-02 «МЕДАСС» (НТЦ «МЕДАСС», Россия).

Лабораторные исследования (общий анализ крови, биохимический анализ крови, гормональный профиль) выполнялись в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России.

Пациентам также проводились ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, соноэластография печени с целью определения степени фиброза печени, УЗИ четырехглавой мышцы бедра с применением В-режима и соноэластографии [14]. Все исследования были выполнены на аппарате Philips Affiniti 70 (Philips, Амстердам, Нидерланды) с использованием соответствующих датчиков, согласно стандартным протоколам.

Статистическая обработка данных производилась с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics для Windows, версия 26 (IBM Corp., Армонк, штат Нью-Йорк, США). Для проверки переменных, используемых для анализа, на нормальность распределения применялся одновыборочный критерий Колмогорова-Смирнова. В связи с ненормальным распределением большинства анализируемых переменных для их анализа использовались методы непараметрической статистики. Результаты обработки качественных данных представлены в виде количества наблюдений (n) и процентов (%). В качестве описательных статистик для количественных данных приведены медиана и межквартильный интервал (МКИ) или, если указано дополнительно – минимальные и максимальные значения.

С целью выявления взаимосвязи между количественными переменными были рассчитаны коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (ρ). Для сравнения переменных между двумя независимыми группами был применен U-критерий Манна-Уитни. Сравнение номинальных признаков было проведено с использованием критерия хи-квадрат. Уровень статистической значимости считали равным $p < 0,05$.

Результаты

Всего в рамках исследования за указанный временной период обследовано 67 пациентов. Однако, в процессе проведения тестов, предусмотренных протоколом исследования, 4 пациента были исключены из дальнейшего анализа по следующим причинам: 1 пациент по причине выявления маркеров вируса гепатита С, 1 пациент по причине выявления рака почки, 1 пациент по причине выявления тиреотоксикоза, 1 пациент по причине отказа от дальнейшего обследования. Таким образом, в окончательный анализ были включены данные 63 пациентов с МАЖБП.

Медиана возраста пациентов, включенных в исследование, составила 58 (51-65) лет. На долю женщин приходилось 63,5% пациентов (n=40). Медиана индекса массы тела (ИМТ) составила 33,27 (30,2-36,8) кг/м^2. У 2 пациентов (3,2%; обе женщины) ИМТ составил менее 25 кг/м^2. У всех мужчин (n=23) и всех женщин (n=40), включенных в исследование, окружность талии была >94 см и >88 см соответственно.

Диагноз АГ 1 степени был установлен у 22 (34,9%) пациентов, АГ 2 степени – у 20 (31,7%) пациентов, а АГ 3 степени – у 21 (33,3%) пациента. В среднем, длительность анамнеза АГ составила 7 (3-10,5) лет. Гипотензивную терапию получали 48 (76,2%) пациентов. На основании расспроса пациентов и сбора анамнеза сахарный диабет 2 типа (СД2) был выявлен у 7 (11,1%) пациентов, а нарушение гликемии натощак (НГН) – у 8 (12,7%) пациентов. Пероральные сахароснижающие препараты получали 5 (7,9%) пациентов.

По данным ультразвукового исследования брюшной полости стеатоз печени был выявлен у всех включенных в исследование пациентов. Медиана индекса FLI составила 85,5 (63-97,5).

1. **Распространенность саркопении, остеопении и остеопороза в изучаемой когорте пациентов**

Количество баллов по опроснику SARC-F ≥4, который позволяет определить симптомы саркопении, было зарегистрировано у 10 (9,2%) пациентов. Результаты кистевой динамометрии указывали на сниженную силу сжатия кисти у 14 (22,2%) пациентов. Медиана возраста пациентов со сниженной силой сжатия кисти составила 62,5 (минимум-максимум: 44-70) лет.

Индекс отношения скелетно-мышечной массы (кг) по данным биоимпедансного анализа состава тела (БИАСТ) к квадрату роста (м2, индекс скелетно-мышечной массы [ИСММ]) был ниже пограничного значения, предложенного консенсусом экспертов Европейского общества по клиническому питанию и обмену веществ (ESPEN) и Европейской ассоциацией по изучению ожирения (EASO) в 2022 г. [15], у 3 (4,8%) пациентов. При этом значение индекса АСМИ у всех обследованных пациентов было выше пограничного значения, предложенного для диагностики сниженной скелетно-мышечной массы. Возраст пациентов со сниженным ИСММ составлял в среднем 66 (минимум- максимум: 62-70) лет.

Минимальное количество баллов по набору функциональных тестов SPPB в изучаемой группе пациентов составило 9 баллов и было зафиксировано у 9 пациентов (14,3%). Десять и одиннадцать баллов по SPPB набрали 9 (14,3%) и 14 (22,2%) пациентов соответственно. При этом сниженное количество баллов по SPPB было обусловлено, главным образом, сниженным числом баллов в тесте «вставания со стула» (1 балл набрали 7 (11,1%) пациентов, 2 балла – 8 (12,7%) пациентов, 3 балла – 14 (22,2%) пациентов), а также с более длительным временем прохождения дистанции в 4 метра (7 (11,1%) пациентов). Медиана возраста пациентов с количеством баллов по SPPB <12 составляла 61,5 (минимум- максимум: 38-70) лет.

Согласно результатам ДРА, остеопения была диагностирована у 25 (39,7%) пациентов (медиана возраста 64 [минимум-максимум: 46-70] лет), а остеопороз – у 1 (1,6%) пациента (возраст 53 года, мужчина). Остеопения была диагностирована у 10 из 14 пациентов со сниженной силой сжатия кисти (p=0,01), а также у 2 из 3 пациентов со сниженным ИСММ. Количество баллов по SPPB <12 набрали 16 из 25 пациентов с остеопенией.

2. Ассоциация между параметрами ультразвукового исследования четырехглавой мышцы бедра и клинико-инструментальными данными у пациентов с МАЖБП

Результаты УЗИ четырехглавой мышцы бедра справа и слева у пациентов, включенных в исследование, приведены в таблице 1. Эхогенность мышц по данным УЗИ была повышена (≥II степени по шкале Heckmatt и соавт. [16]) у 51 (81%) пациента при исследовании четырехглавой мышцы бедра на правой ноге и у 52 (82,5%) пациентов при исследовании четырехглавой мышцы бедра на левой ноге.

Таблица 1. Результаты ультразвукового исследования четырехглавой мышцы бедра пациентов с МАЖБП, включенных в исследование

Параметр	**Правое бедро**	**Левое бедро**
Подкожно-жировая клетчатка, мм	16,2 (10,7-21,5)	16,0 (10,0-21,6)
Прямая мышца, толщина, мм (поперечное сканирование)	20,5 (17,6-24,1)	20,3 (16,5-23,9)
Промежуточная мышца, толщина, мм (поперечное сканирование)	20,8 (17,1-26,5)	20,6 (15,2-24,5)
Степень эхогенности мышцы по Heckmatt [16]:		
I, n (%)	12 (19,0)	11 (17,5)
II, n (%)	38 (60,3)	38 (60,3)
III, n (%)	12 (19,0)	13 (20,6)
IV, n (%)	1 (1,6)	1 (1,6)
Эластография четырехглавой мышцы, картограмма:		
Преимущественно зоны высокой жесткости/плотности, n (%)	3 (4,8)	6 (9,5)
Преимущественно высоко эластичные зоны, n (%)	25 (39,7)	34 (54,0)
В равной степени присутствуют жесткие и эластичные зоны, n (%)	35 (55,6)	23 (36,5)
Упругость прямой мышцы бедра, кПа, [м/с]	6,4 (4,8-7,9), [1,5 (1,3-1,6)]	6,0 (4,9-7,1), [1,4 (1,3-1,6)]

Количественные переменные представлены медианами (межквартильными интервалами)

Для качественных данных приведены абсолютные значения и проценты

В результате анализа взаимосвязи между структурно-функциональными характеристиками четырехглавой мышцы бедра по данным УЗИ, критериями саркопении и снижением МПК у пациентов с МАЖБП были получены следующие обобщенные результаты:

- количество баллов по опроснику SARC-F, находилось в обратной зависимости от толщины и упругости прямой мышцы бедра по данным УЗИ (справа: $p = 0{,}013$ и $p = 0{,}023$; слева: $p = 0{,}007$ и $p = 0{,}084$ соответственно) и в прямой зависимости от толщины подкожно-жировой клетчатки (ПЖК) на правом ($p < 0{,}001$) и левом бедре ($p < 0{,}001$);

- между силой сжатия кисти и толщиной (справа и слева $p < 0{,}001$), а также упругостью четырехглавой мышцы бедра (справа: $p = 0{,}001$ и слева: $p = 0{,}012$) по данным УЗИ была выявлена положительная корреляционная связь;

- между такими критериями саркопении, как сила сжатия кисти и баллы по SPPB, и толщиной ПЖК на правом и левом бедре (справа: $p < 0{,}001$ и $p = 0{,}042$; слева: $p < 0{,}001$ и $p = 0{,}001$ соответственно) была обнаружена статистически значимая обратная корреляционная связь;

- количество скелетных мышц по данным БИАСТ и ДРА статистически значимо коррелировало с толщиной четырехглавой мышцы бедра справа и слева (справа: $p < 0{,}001$ и $p < 0{,}001$ соответственно; слева: $p < 0{,}001$ и $p < 0{,}001$ соответственно, прямая корреляционная связь), а также с толщиной ПЖК справа и слева (справа: $p < 0{,}001$ и $p < 0{,}001$ соответственно; слева: $p < 0{,}001$ и $p < 0{,}001$ соответственно, обратная корреляционная связь).

В результате сопоставления данных УЗИ четырехглавой мышцы бедра справа и слева у пациентов с остеопенией и пациентов без остеопении было обнаружено, что у пациентов с остеопенией ($n=25$) толщина прямой и промежуточной мышц бедра справа и слева, а также упругость прямой мышцы бедра справа и слева были статистически значимо меньше, а толщина ПЖК справа и слева статистически значимо больше, чем у пациентов без остеопении (рисунок 1).

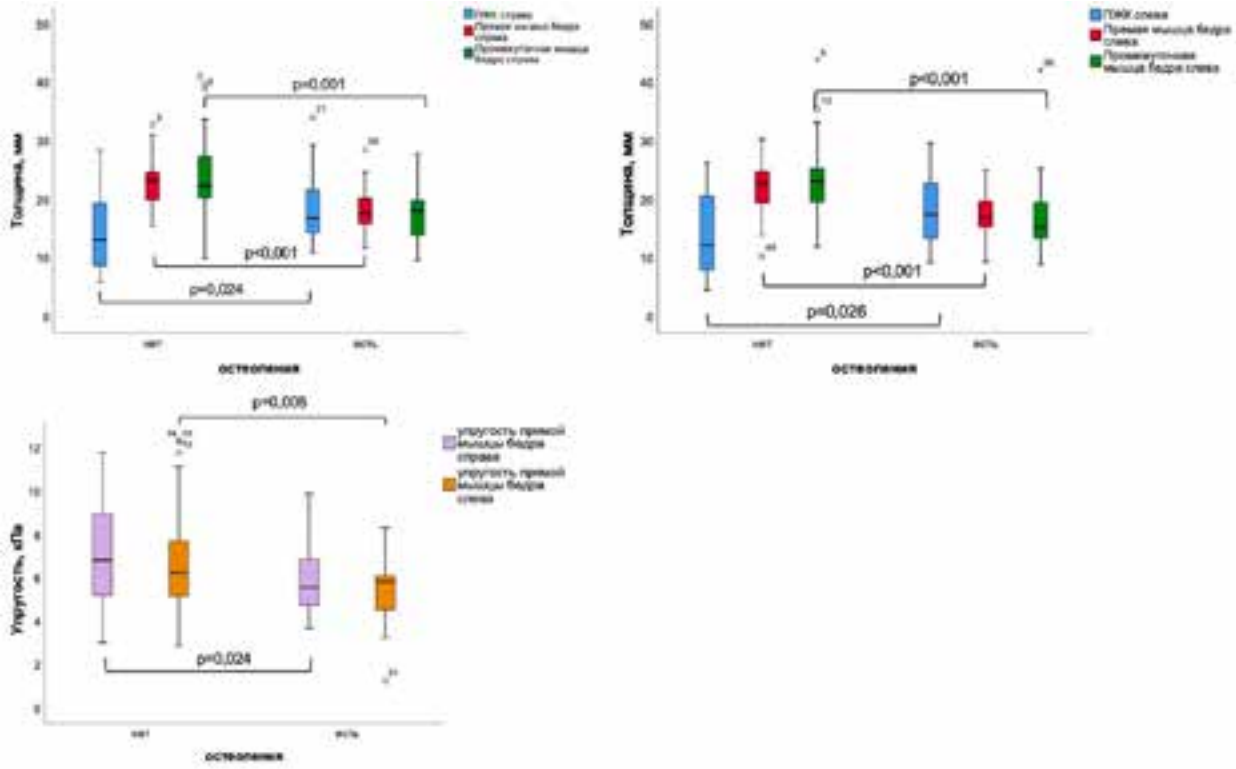


Рисунок 1. Параметры УЗИ четырехглавой мышцы бедра у пациентов с остеопенией и без остеопении

Ящики представляют собой межквартильный интервал; жирная горизонтальная линия внутри ящика соответствует медиане; «усы» отражают минимальное и максимальное значение признака; круг/звездочка соответствуют выбросам.

Значения p приведены для критерия Манна-Уитни.

3. Взаимосвязь между структурно-функциональными характеристиками скелетных мышц, наличием критериев саркопении, снижением МПК и выраженностью фиброза печени у пациентов с МАЖБП

Согласно результатам корреляционного анализа было установлено, что показатели эластометрии печени статистически значимо коррелируют:

- с силой сжатия кисти ведущей (доминантной) руки (прямая связь, p=0,017);

- со следующими параметрами состава тела: процент жира в теле (обратная связь, p=0,023), тощая масса (прямая связь, p=0,014), ИСММ (прямая связь, p=0,025);

- со следующими данными ДРА: МПК (Т-критерий) в области шейки бедра (прямая связь, p=0,012);

- со следующими данными УЗИ четырехглавой мышцы бедра: с упругостью прямой мышцы бедра справа (прямая связь, p=0,009) и слева (прямая связь, p=0,002).

При разделении пациентов на группы в зависимости от результатов эластометрии печени, было установлено, что у пациентов с упругостью печени >7 кПа при УЗИ четырехглавой мышцы

бедра в основном регистрировалась III ст. эхогенности четырехглавой мышцы бедра и справа (p=0,073), и слева (p=0,004). Кроме того, при эластографии мышц у пациентов с вероятным значимым фиброзом печени по данным эластометрии статистически значимо чаще в структуре четырехглавой мышцы бедра преобладали зоны высокой жесткости/плотности и справа (p<0,001), и слева (p=0,009).

У всех пациентов со сниженной МПК, включенных в исследование на данный момент, показатели эластометрии печени находились в пределах значений, соответствующих стадии фиброза F ≥2 по шкале METAVIR.

Заключение

На основании полученных результатов, можно заключить, что, во-первых, сниженная мышечная сила, определяемая при кистевой динамометрии, является наиболее ранним маркером саркопении. Выявление сниженной мышечной силы автоматически относит пациента к группе риска наличия/развития саркопении, а также неблагоприятного течения и прогноза основного заболевания. Следовательно, именно на этом этапе необходимо осуществлять активную профилактику снижения мышечной массы и нарушения мышечной функции.

Кроме того, было установлено, что нарушенные структурно-функциональные, силовые параметры скелетных мышц взаимосвязаны со сниженной МПК у пациентов с МАЖБП. При этом, более тяжелые изменения со стороны мышц, касающиеся снижения мышечной массы, ассоциированы с более выраженным снижением МПК.

Во-вторых, нами впервые описана взаимосвязь между УЗ-параметрами четырехглавой мышцы бедра, критериями, используемыми для выявления случаев саркопении (кистевая динамометрия, опросник SARC-F, количество скелетных мышц в организме), а также показателями МПК. Установлено, что УЗИ четырехглавой мышцы бедра позволяет оценить качественные характеристики скелетных мышц, изменение которых может являться ранним маркером саркопении и/или миостеатоза в условиях, когда количество и функция скелетных мышц все еще остаются сохранными.

В третьих, результаты предварительного анализа набранных данных свидетельствуют в пользу предположения о том, что у пациентов с МАЖБП изменения, происходящие в печени в процессе естественного течения заболевания, сопровождаются сходными изменениями в скелетных мышцах, проявляющихся повышением эхогенности мышц и увеличением их жесткости/плотности, что может говорить, как о развитии миостеатоза, так и о формировании фиброза мышц, способствующего снижению мышечной силы и функции [17,18].

ЛИТЕРАТУРА

1. Younossi Z, Tacke F, Arrese M, et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis // Hepatology. – 2019. – Vol. 69, No 6. P. 2672–2682.
2. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review // Hepatology. – 2023. – Vol. 77, No 4. P. 1335–1347.
3. Riazi K, Azhari H, Charette JH, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis // Lancet Gastroenterol Hepatol. – 2022. – Vol.7, No9. P. 851– 861.
4. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis // J Hepatol. – 2019. – Vol.71, No 4. P. 793-801.
5. Cheung A, Ahmed A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Chronic Kidney Disease: A Review of Links and Risks // Clin Exp Gastroenterol. – 2021. – Vol. 14. P. 457-465.
6. Manzano-Nunez R, Santana-Dominguez M, Rivera-Esteban J, et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression // J Clin Med. – 2023. – Vol.12, No. 3. P. 856.
7. Ren ZL, Li CX, Ma CY, et al. Linking Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Brain Disease: Focusing on Bile Acid Signaling. Int J Mol Sci // 2022. – Vol. 23, No. 21. – P. 13045.
8. Iwaki M, Kobayashi T, Nogami A, Saito S, Nakajima A, Yoneda M. Impact of Sarcopenia on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease // Nutrients. – 2023. – Vol.15, No. 4. P. 891.
9. Zhao Q, Yin Y, Deng Y. Metabolic associated fatty liver disease and sarcopenia additively increase mortality: a real-world study // Nutr Diabetes. – 2023. – Vol. 13, No. 1. P. 21.
10. Hayashi M, Abe K, Fujita M, Okai K, Takahashi A, Ohira H. Association between sarcopenia and osteoporosis in chronic liver disease // Hepatol Res. – 2018. – Vol. 48, No. 11. P. 893-904.
11. Yang YJ, Kim DJ. An Overview of the Molecular Mechanisms Contributing to Musculoskeletal Disorders in Chronic Liver Disease: Osteoporosis, Sarcopenia, and Osteoporotic Sarcopenia // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol.22, No. 5. P. 2604.
12. Использование метода комплексной антропометрии в спортивной и клинической практике: Методические рекомендации / ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». 2017. – 51 с.
13. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al; Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the

Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis // Age Ageing. – 2019. – Vol.48, No.1. P.16– 31.

14. Wijntjes J, van Alfen N. Muscle ultrasound: Present state and future opportunities // Muscle Nerve. – 2021. – Vol.63, No. 4. P.455– 466.
15. Donini LM, Busetto L, Bischoff SC, et al. Definition and Diagnostic Criteria for Sarcopenic Obesity: ESPEN and EASO Consensus Statement // Obes Facts. – 2022. – Vol. 15, No. 3. P. 321-335.
16. Heckmatt JZ, Leeman S, Dubowitz V. Ultrasound imaging in the diagnosis of muscle disease // J Pediatr. – 1982. – Vol. 101, No.5. P. 656-660.
17. Albayda J, van Alfen N. Diagnostic Value of Muscle Ultrasound for Myopathies and Myositis // Curr Rheumatol Rep. – 2020. – Vol.22, No.11. P.82.
18. Giovannini S, Brau F, Forino R, et al. Sarcopenia: Diagnosis and Management, State of the Art and Contribution of Ultrasound // J Clin Med. – 2021. – Vol. 10, No. 23. P. 5552.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОФИЛЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ С КЛИНИКО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫМИ ПАРАМЕТРАМИ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАРНОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ СО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА

А.А. Яфарова[1], А.Ф. Шептулина[1], О.А. Злобовская[2], Е.В. Дементьева[2]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г. Москва

[2]ФГБУ «Центр стратегического планирования» ФМБА России, г. Москва

Резюме

Цель работы. Изучить профиль КМ и его взаимосвязь с клинико-лабораторными и инструментальными параметрами у пациентов с коронарной болезнью сердца (КБС) и сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса (СНнФВ) для детального изучения вклада дисбиоза в развитие и прогрессирование этих заболеваний

Материалы и методы. Анализ КМ проводился с помощью методов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Все расчеты по поиску корреляций были проведены с помощью языка программирования Python (пакеты Pandas, Numpy, Pingouin и scipy).

Результаты. При сравнительном анализе было выявлено, что представленность *Bacillota* в группах КБС и СНнФВ была статистически значимо выше по сравнению с группой контроля ($p < 0{,}001$). В то же время содержание филотипа Bacteroidota было значительно ниже в группах КБС и СНнФВ по сравнению с контролем ($p < 0{,}001$). Содержание *Actinobacteriota* было выше в группах КБС ($p < 0{,}001$) и СНнФВ ($p = 0{,}026$) в сравнении с контрольной группой. Представленность всех филотипов, за исключением *Methanobacteriota*, была сопоставимой в группах КБС и СНнФВ. Показатель отношения Bacillota/Bacteroidota был статистически значимо выше в группах КБС и СНнФВ по сравнению с контрольной группой ($p < 0{,}001$). Представленность некоторых продуцентов короткоцепочечных жирных кислот обратно коррелирует с показателями гипертрофии миокарда. Относительная представленность метан-продуцирующих семейств архей Methanomassiliicoccaceae, Methanomethylophilaceae ассоциирована с жизнеугрожающими нарушениями ритма (ЖТ/ФЖ) ($\rho = -0{,}378$).

Заключение. У пациентов с КБС и СНнФВ состав КМ на уровне филотипов существенно отличается от такого в группе контроля. Представленность некоторых продуцентов

короткоцепочечных жирных кислот (в частности, *Faecalibacterium prausnitzii*) обратно коррелирует с показателями гипертрофии миокарда. Относительная представленность архей Methanomassiliicoccaceae, Methanomethylophilaceae ассоциирована с жизнеугрожающими нарушениями ритма (ЖТ/ФЖ).

Ключевые слова: кишечная микробиота, сердечная недостаточность, коронарная болезнь сердца, ТМАО.

Список сокращений: CRT-D — кардиовертер-дефибриллятор с функцией сердечной ресинхронизирующей терапии; NGS, next generation sequencing – секвениирование нового поколения; АГ – артериальная гипертензия; ЖТ/ФЖ — желудочковая тахикардия/фибрилляция желудочков, ЗС ЛЖ — задняя стенка левого желудочка; ИКР - интерквартильный размах; ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка; ИОЛП — индекс объема левого предсердия; ИМТ – индекс массы тела; ИС – индоксил сульфат; КБС – коронарная болезнь сердца; КДО ЛЖ — конечный диастолический объем левого желудочка; КДР ЛЖ — конечный диастолический размер левого желудочка; КМ – кишечная микробиота; КСО ЛЖ — конечный систолический объем левого желудочка; МЖП — межжелудочковая перегородка; ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени; СДЛА — систолическое давление в легочной артерии; СНнФВ – сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ТМАО – триметиламин-N-оксид; ЭхоКГ — эхокардиография.

Введение

На сегодняшний день кишечная микробиота (КМ) является объектом пристального внимания специалистов различных областей. Интерес к КМ как к «невидимому метаболическому органу» неуклонно растет: по данным базы PubMed, за 2021 год было опубликовано 12 436 публикаций, за 2022 год – 13 580 работ. За последние 2 десятилетия изучение роли КМ существенно расширилось и вышло далеко за пределы пищеварительного тракта. В экспериментальных и клинических исследованиях были получены данные, что КМ играет роль посредника в коммуникации между желудочно-кишечным трактом и другими системами организма-хозяина (оси «кишечник-мозг», «кишечник-сердце», «кишечник-печень», «кишечник-почки» и т.д.). [1, 2]

Изучение КМ является перспективным направлением в контексте атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Так, уровень триметиламин-N-оксида (ТМАО)

недавно стали рассматривать в качестве одного из возможных сердечно-сосудистых факторов риска [3]. Также было показано, что уремические токсины (особенно индоксил сульфат - ИС), образующиеся при непосредственном участии КМ, способствуют агрессивному течению атеросклероза у пациентов с хронической болезнью почек. Кишечная микробиота и ее метаболиты задействованы в феномене солечувствительности, атерогенезе, метаболизме кардиотропных препаратов. Накоплены убедительные доказательства того, что состав КМ и уровень некоторых ее метаболитов у пациентов с ССЗ имеет определенные отличия от здорового контроля [4]. На сегодняшний день причинно-следственная связь между изменениями состава КМ и ССЗ остается открытым вопросом для исследователей. Кроме того, актуальным является вопрос, существует ли необходимость оценки состава КМ у пациентов с ССЗ в рутинной клинической практике.

Большая часть научных данных, описывающих качественный и количественный состав КМ при ССЗ, очень гетерогенна: как правило, это исследования с небольшой выборкой, где использовались различные методы оценки КМ (микробиологическое исследование кала, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, секвенирование гена 16S рРНК) [5,6]. В подавляющем большинстве научных исследований были представлены отличительные характеристики состава КМ при различных ССЗ по сравнению со здоровым контролем [7,8]. Гораздо меньше работ, где изучались взаимосвязь с клинико-лабораторными и инструментальными параметрами пациентов с ССЗ []. Целью нашей работы было изучить профиль КМ и его взаимосвязь с клинико-лабораторными и инструментальными параметрами у пациентов с коронарной болезнью сердца (КБС) и сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса (СНнФВ) для детального изучения вклада дисбиоза в развитие и прогрессирование этих заболеваний.

Материалы и методы

На базе отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения ФГБУ "НМИЦ терапии и профилактической медицины" Минздрава России совместно с Центром стратегического планирования) ФМБА России был реализован научный проект "Создание биобанка для проведения клинической апробации тест-системы для детекции специфического паттерна микробиоты у пациентов с ССЗ", в рамках которого в период 2018-2020 гг. осуществлялся набор пациентов 18-79 лет с обструктивным атеросклерозом брахиоцефальных/коронарных артерий и артерий нижних конечностей), СНнФВ, а также группы сравнения. Научный проект проводился в соответствии с Хельсинкской декларацией и последующими поправками к ней и был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ "НМИЦ терапии и профилактической медицины" Минздрава России

(протокол № 04-05/18 от 7 июня 2018 г., протокол № 03-02/19 от 11 апреля 2019 г.). В анализ были включены 80 лиц мужского пола: 30 пациентов с КБС (выявленное обструктивное поражение коронарных артерий по данным коронароангиографии), 30 пациентов с СНнФВ, ассоциированной с обструктивным поражением коронарных артерий, и 20 пациентов с различными сердечно-сосудистыми факторами риска, которые составили группу сравнения.

Оценка рациона питания по частоте потребления отдельных групп продуктов проводилась с помощью опросника оценки пищевых привычек The Healthy Eating Index 2020 (Индекс здорового питания 2020) [11]. Данный опросник создан для оценки соответствия рациона питания пациента диетическим рекомендациям, актуальным для периода 2020–2025 гг. Он представляет собой набор компонентов рациона, который в зависимости от соответствия стандартам для минимального и максимального балла по каждому пункту оценивается от 0 до 3 баллов (общее потребление свежих фруктов и овощей, зеленых овощей, мяса, рыбы и соли) или от 0 до 10 (общее потребление пищевых волокон, животного и растительного белка, быстрых углеводов, насыщенных жиров, включая трансжиры; ненасыщенных жиров, добавленных сахаров и фруктозы, молочных продуктов).
Анализ КМ проводился с помощью методов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS).

Все расчеты по поиску корреляций были проведены с помощью языка программирования Python (пакеты Pandas, Numpy, Pingouin и scipy). Согласно практике микробиомных исследований, между сравниваемыми группами пациентов не должно быть значительных различий по ИМТ и возрасту, а именно разницы между средними выборочными значениями ИМТ и возраста не должны превышать 3 кг/м^2 и 15 лет, соответственно.

Результаты

Медиана [интерквартильный размах (ИКР)] возраста составила 67,5 [62,0;73,0] лет в группе СНнФВ, 62,5 [57,0; 66,0] лет в группе КБС и 56,5 [51,0; 61,5] лет в группе сравнения. Медиана возраста пациентов в группе СНнФВ была выше по сравнению с группой сравнения (p=0,001), в то время как между группами СНнФВ и КБС, КБС и группой сравнения статистически значимых различий выявлено не было.

Значения медианы [ИКР] ИМТ у пациентов с СНнФВ составили 29,35 [26,83;32,01] кг/м^2, у пациентов с КБС - 29,01 [27,47;31,77] кг/м^2, у пациентов группы сравнения - 28,2 [26,34;30,35] кг/м^2, при этом группы были сопоставимы по ИМТ (p = 0,337). Большинство пациентов с

СНнФВ (73,4%) имели II функциональный класс (ФК) по Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), 13,3% были отнесены к I ФК, а 13,3% - к III ФК.

Основными этиологическими причинами СНнФВ служили перенесенный инфаркт миокарда (ИМ), который имел место у 90,0% участников, и артериальная гипертензия (АГ), которой страдали 80,0 % участников данной группы. В группе КБС перенесенный ИМ и АГ имели место у 50,0% и 80,0% участников, соответственно. Реваскуляризация коронарных артерий (чрескожное коронарное вмешательство или аорто-коронарное шунтирование) была выполнена у 80,0% пациентов с СНнФВ и у 46,67% пациентов группы КБС. В группе СНнФВ 40,0% участников была проведена имплантация устройства для сердечной ресинхронизирующей терапии с кардиовертером-дефибриллятором (CRT-D). В группах СНнФВ и КБС нарушения ритма в виде фибрилляции/трепетания предсердий имелись у 43,3% и 20,0% участников соответственно. Эпизоды желудочковой тахикардии/фибрилляции желудочков в анамнезе были зарегистрированы у 23,3% пациентов с СНнФВ и у 3,3% пациентов с КБС. У участников группы сравнения в анамнезе не было указаний на перенесенный инфаркт миокарда, жизнеугрожающие нарушения ритма, а также сахарный диабет, им не проводились реваскуляризация коронарных артерий или катетерная абляция.

Медиана [ИКР] значений скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по CKD-EPI составила 69,0 [54,0;85,0] мл/мин/1,73м^2 в группе СНнФВ, 90,0 [74,0;95,0] мл/мин/1,73м^2 в группе КБС и 84,0 [78,5;94,0] мл/мин/1,73м^2 в группе сравнения. Медианы [ИКР] значений клиренса креатинина по Кокрофту-Голту в группах СНнФВ, КБС и в группе сравнения составили 81,5 [59,0;97,0] мл/мин, 100,5 [85,0;121,0] (мл/мин), 101,5 [84,0;126, 0] (мл/мин), соответственно. Медианы значений СКФ по CKD-EPI и клиренса креатинина по Кокрофту-Голту были статистически значимо выше в группе СНнФВ по сравнению с группой КБС и группой сравнения ($p=0,003$ и $p=0,001$, соответственно). Медианы значений глюкозы, трансаминаз, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП), триглицеридов оказались сопоставимы в изучаемых группах.

Основные структурно-функциональные показатели по данным эхокардиографии представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Основные структурно-функциональные показатели по данным эхокардиографии

Параметр	СНнФВ (n=30)	КБС (n=30)	Группа сравнения (n=20)	p
Толщина МЖП, см	1,0[0,8;1,3]	1,1[1,0;1,3]	1,0[0,9;1,1]	0,11
Толщина ЗС ЛЖ, см	0,9 [0,8;1,2]	1,1[1,0;1,2]	1,0[0,95;1,0]	**0,049**
ММЛЖ, г	271,0 [235,5;329,5]	230,5 [190,0;290,0]	192,0 [173,0;206,5]	**<0,001**
ИММЛЖ, г/м^2	132,5 [116,5;152,5]	111,0 [95,0;135,0]	94,0 [85,5;101,5]	**<0,001**
КСО ЛЖ, мл	140,5 [107,0;175,0]	49,0 [41,0;58,0]	42,0 [39,5;46,0]	**<0,001**
КДО ЛЖ, мл	212,5 [191,5;253,0]	138,0 [120,0;153,0]	126,0 [112,0;133,5]	**<0,001**
КСР ЛЖ, см	4,75[3,65;5,65]	3,45[3,2;4,0]	3,3[3,15;3,4]	**<0,001**
КДР ЛЖ, см	6,4[6,2;6,95]	5,3[5,1;5,5]	5,1[4,95;5,2]	**<0,001**
ФВ, %	34,5[29,27;40,0]	64,0[58,86;67,0]	64,89[61,78;67,7]	**<0,001**
УО, мл	74,0[62,5;90,5]	89,5[77,0; 99,0]	82,0 [74,5; 85,0]	0,087
ПЖ, см	3,3[3,0;3,6]	3,25[2,9;3,4]	3,2[2,9;3,4]	0,643
СДЛА, мм рт ст	37,5[28,0;42,5]	30,0[27,0;35,0]	26,0[25,0;27,5]	**<0,001**
Объем ЛП, мл	136,5 [108,0;143,0]	81,5[68,0;92,0]	70,0[57,0;76,5]	**<0,001**
ИОЛП, мл/м^2	64,5[56,0;73,0]	39,0[34,0;44,0]	34,0[29,0;36,5]	**<0,001**

Примечание: ЗС ЛЖ — задняя стенка левого желудочка, ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка, ИОЛП — индекс объема левого предсердия, КБС — коронарная болезнь сердца, КДО ЛЖ — конечный диастолический объем левого желудочка, КДР ЛЖ — конечный диастолический размер левого желудочка, КСО ЛЖ —

конечный систолический объем левого желудочка, МЖП — межжелудочковая перегородка, ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, СДЛА — систолическое давление в легочной артерии, СНнФВ — сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса, ЭхоКГ — эхокардиография

В группе СНнФВ наиболее часто принимаемыми группами препаратов были β-адреноблокаторы (90,0% пациентов), ингибиторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС, 86,7% пациентов), антагонисты минералокортикоидных рецепторов (АМКР, 73,3% пациентов), антиагреганты (60,0% пациентов). В группе КБС 96,6 % участников принимали ингибиторы РААС, 90,0% - антиагреганты, 80,0% - статины. Наиболее часто принимаемыми группами препаратов в группе контроля были ингибиторы РААС (40,0% пациентов), далее в порядке убывания располагались статины (30,0% пациентов), в равных долях диуретики и ингибиторы протонной помпы (по 10,0% пациентов). Участники из контрольной группы не принимали β-адреноблокаторы, антиагреганты, антикоагулянты, АМКР. Исследуемые группы статистически значимо отличались по таким классам принимаемой медикаментозной терапии, как β-адреноблокаторы, ингибиторы РААС, антиагреганты, антикоагулянты, статины, диуретики, АМКР ($p < 0,001$). По приему антагонистов кальция, антиаритмиков и ингибиторов протонной помпы статистически значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$).

Согласно результатам анализа опросников «Индекс здорового питания 2020», частота потребления отдельных групп продуктов статистически значимо не отличалась у исследуемых групп (данные не представлены).

Оценка различий состава КМ для исследуемых групп методом обобщенных линейных моделей (Квази-Пуассон, сверхдисперсия) с ковариатами приведена на Рисунке 1. При сравнительном анализе было выявлено, что представленность *Bacillota* в группах КБС и СНнФВ была статистически значимо выше по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). В то же время содержание филотипа Bacteroidota было значительно ниже в группах КБС и СНнФВ по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Содержание *Actinobacteriota* было выше в группах КБС ($p < 0,001$) и СНнФВ ($p = 0,026$) в сравнении с контрольной группой. Стоит отметить, что содержание *Verrucomicrobiota* оказалось статистически значимо выше только в группе СНнФВ ($p = 0,003$), но не КБС ($p = 0,179$) по сравнению с контролем. Представленность всех филотипов, за исключением *Methanobacteriota*, была сопоставимой в группах КБС и СНнФВ. Показатель отношения Bacillota/Bacteroidota был статистически

значимо выше в группах КБС и СНнФВ по сравнению с контрольной группой (p< 0,001). Данный показатель был сопоставим в группах КБС и СНнФВ.

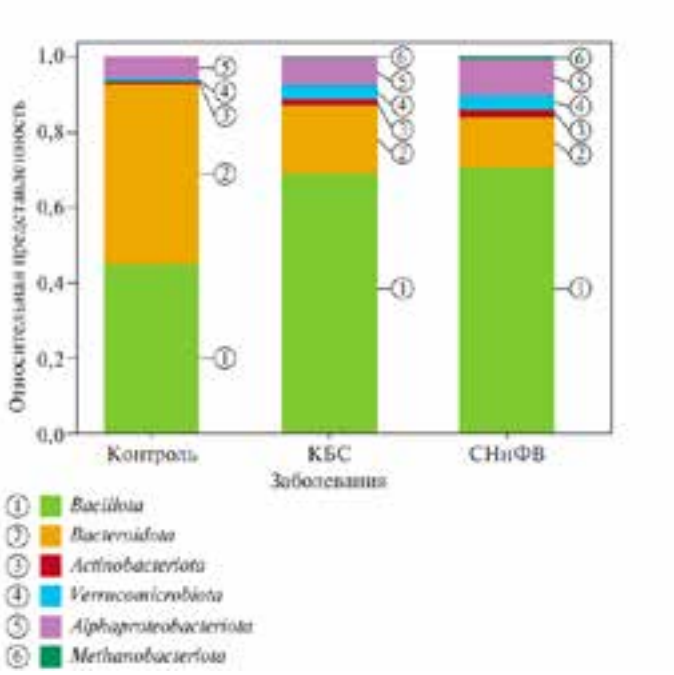


Рисунок 1. Состав кишечной микробиоты на уровне филотипов у исследуемых групп пациентов по данным NGS (база данных RDP)

Примечание: КБС — коронарная болезнь сердца, КМ — кишечная микробиота, СНнФВ — сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса, NGS — секвенирование нового поколения (next generation sequencing, RDP — Remote Desktop Protocol

В таблице 2 приведены корреляционные связи между относительной представленностью родов бактерий по данным ПЦР-РВ и структурно-функциональными параметрами сердца.

Таблица 2. Корреляционные связи между относительной представленностью родов бактерий по данным ПЦР-РВ и структурно-функциональными параметрами сердца

Параметр по данным Эхо-КГ	**Семейство/род/вид**	**Коэффициент корреляции Спирмена,** ρ	**p после поправок**	**p до поправок**
Для всех групп				
ЗС ЛЖ, см	Lactobacillaceae	0,306	**0,0079**	**<0.01**
ФВ, %	*Oscillibacter sp.*	-0,322	**0,005**	**<0.01**
ЗС ЛЖ, см	*Ruminococcus sp.*	0,335	**0,0035**	**<0.01**

Параметр по данным Эхо-КГ	**Семейство/род/вид**	**Коэффициент корреляции Спирмена, ρ**	**p после поправок**	**p до поправок**
МЖП, см	Pasteurellaceae	-0,33	**0,0088**	**<0.01**
ИММЛЖ, г/м2	Pasteurellaceae	-0,328	**0,0093**	**<0.01**
КДО ЛЖ, мл	Pseudomonadaceae	0,333	**0,0082**	**<0.01**
МЖП, см	Victivallaceae	-0,329	**0,0089**	**<0.01**
КБС				
Масса миокарда ЛЖ, г	*Oscillibacter sp.*	0,334	> 0,05	**0,0080**
ИММЛЖ, г/м2	*Oscillibacter sp.*	0,304	> 0,05	**0,0161**
КДО ЛЖ, мл	Enterobacteriaceae	0,381	> 0,05	**0,0023**
КДР ЛЖ, см	Enterobacteriaceae	0,401	**0,0402**	**0,0012**
СНнФВ				
Толщина ЗС ЛЖ, см	Faecalibacterium prausnitzii	-0,448	> 0,05	**0,0116**
Толщина ЗС ЛЖ, см	Odoribacter sp.	-0,362	> 0,05	**0,0455**
Толщина ЗС ЛЖ, см	Oscillibacter sp.	-0,489	> 0,05	**0,0052**
Толщина ЗС ЛЖ, см	Ruminococcus sp.	0,517	> 0,05	**0,0029**
ИММЛЖ, г/м2	Faecalibacterium prausnitzii	-0,378	> 0,05	**0,0360**
ИОЛП, мл/м2	Bifidobacterium sp.	-0,396	> 0,05	**0,0274**
КСО ЛЖ, мл	Lactobacillaceae	-0,376	> 0,05	**0,0373**
СДЛА, мм рт ст	Bacteroides	0,443	> 0,05	**0,0126**

Примечание: ЗС ЛЖ — задняя стенка левого желудочка, ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка, ИОЛП — индекс объема левого предсердия, КБС — коронарная болезнь сердца, КДО ЛЖ — конечный диастолический объем левого желудочка, КДР ЛЖ — конечный диастолический размер левого желудочка, КСО ЛЖ — конечный систолический объем левого желудочка, МЖП — межжелудочковая перегородка, СДЛА — систолическое давление в легочной артерии, СНнФВ — сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса, ЭхоКГ — эхокардиография

В таблице 3 представлены выявленные связи между относительной представленностью отдельных семейств КМ и некоторых клинических параметров у пациентов с КБС и СНнФВ. Особый интерес представляет прямая корреляционная связь умеренной силы между представленностью архей Methanomassiliicoccaceae и Methanomethylophilaceae и жизнеугрожающими нарушениями ритма. Также впервые была выявлена обратная корреляционная связь высокой силы между представленностью семейства Hungateiclostridiaceae – продуцентами короткоцепочечных жирных кислот – и наличием АГ.

Таблица 3. Корреляционные связи между относительной представленностью семейств и некоторых клинических параметров у пациентов с КБС и СНнФВ

Клинические параметры	**Семейства**	**Коэффициент корреляции Спирмена,** ρ	**p после поправок**	**p до поправок**
АГ	Clostridia/Hungateiclostridiaceae	-0,76	**<0,0001**	**<0,0001**
АГ	Lactobacillales/Streptococcaceae	0,55	**0,0460**	**0,0007**
ЖТ_ФЖ	Methanomassiliicoccales/Methanomassiliicoccaceae	0,49	**0,0003**	**<0,0001**
ЖТ_ФЖ	Methanomassiliicoccales/Methanomethylophilaceae	0,49	**0,0003**	**<0,0001**
CRT-D	Syntrophomonadales/Syntrophomonadaceae	0,55	**<0,0001**	**<0,0001**
CRT-D	Micrococcales/Micrococcaceae	-0,58	**0,0199**	**0,0002**

Примечание: АГ — артериальная гипертензия, ЖТ/ФЖ — желудочковая тахикардия/фибрилляция желудочков, КБС — коронарная болезнь сердца, CRT-D — кардиовертер-дефибриллятор с функцией сердечной ресинхронизирующей терапии

Заключение

У пациентов с КБС и СНнФВ в составе КМ выше относительная представленность филотипа Bacillota, выше соотношение Bacillota/Bacteroidota, ниже содержание филотипа Bacteroidota. Представленность некоторых продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (в частности, *Faecalibacterium prausnitzii*) обратно коррелирует с показателями гипертрофии миокарда. Относительная представленность метан-продуцирующих семейств архей Methanomassiliicoccaceae, Methanomethylophilaceae ассоциирована с жизнеугрожающими нарушениями ритма (ЖТ/ФЖ). Полученные данные могут служить базисом для разработки принципиально новых методов диагностики, профилактики и лечения множества заболеваний, включая ССЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kamo T, Akazawa, Suzuki JI, et al. Novel Concept of a heart-gut axis in the pathophysiology of heart failure// Korean Circ J - 2017 – No. 4 – P. 663-9
2. Bui TVA, Hwangbo H, Lai Y, et al. The Gut-Heart Axis: Updated Review for The Roles of Microbiome in Cardiovascular Health// Korean Circ J. – 2023 – Vol.53 -No8 – P.499-518.
3. Кочетков А.И., Клепикова М.В., Остроумова О.Д. Триметиламиноксид и его возможная роль в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний// Кардиоваскулярная терапия и профилактика – 2021 – Т.20 - №6 – С.3014
4. Булгакова С.В., Захарова Н.О., Романчук П.И. Микробиота кишечника: новый регулятор сердечно-сосудистой функции // Бюллетень науки и практики – 2021 – Т.7- №1 – С.200-22.
5. Dong Y, Xu R, Chen X et al. Characterization of gut microbiota in adults with coronary atherosclerosis //PeerJ. – 2023 – No.11 - P. e15245.
6. Sandek A., Juergen B, Swidsinski A, et al. Altered Intestinal Function in Patients with Chronic Heart Failure // Journal of the American College of Cardiology – 2007 – No 50 – P. 1561–9.
7. Pasini E, Aquilani R, Testa C, et al. Pathogenic Gut Flora in Patients With Chronic Heart Failure // JACC Heart Fail – 2016 – Vol.4 - No3 – P.220-7.
8. Luedde M, Winkler T, Heinsen FA, et al. Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota // ESC Heart Fail - 2017 – Vol.4 - No3 – P.282-290.
9. Фадеева М.В., Кудрявцева А.В., Краснов Г.С., и соавт. Кишечная микробиота у больных хронической сердечной недостаточностью с систолической дисфункцией // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2020 Т.30 - №2 – С.35-44.
10. Jie Z, Xia H, Zhong SL, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease //Nat Commun – 2017 – Vol.8 - No1 – P.845.
11. Shams-White MM, Pannucci TE, Lerman JL, et al. Healthy Eating Index-2020: Review and Update Process to Reflect the Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025// J Acad Nutr Diet- 2023 – Vol.123 - No9 – P.1280-8.

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Билибин Александр Федорович (1897–1986)

«Врач в союзе с больным дважды врач. Оставаться одному ему не нужно и невыгодно, искусный врач ищет такого союза, достижение его – залог успеха»

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИИ РОДА *DESULFOVIBRIO* SPP. НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Л.А. Битюмина, А.А. Плоскирева, Н.Г. Куликова, А.В. Горелов

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Бактерии рода *Desulfovibrio* sp. грамотрицательные, не спорообразующие анаэробные бактерии. Они широко распространены в кишечнике человека и животных, а также в окружающей среде. Влияние бактерий рода *Desulfovibrio* sp. на организм человека в настоящее время активно изучается. В различных исследованиях описана их роль в возникновении воспалительных хронических заболеваниях ЖКТ (например, язвенном колите) [1], различных психических и когнитивных расстройствах (расстройства аутистического спектра (РАС), болезнь Паркинсона) [2,3]. Согласно данным научной литературы, *Desulfovibrio desulfuricans* является этиологическим фактором бактериемии [4].

Цель. Определение патогенеза сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfovibrio* sp. в организме человека.

Пациенты и методы. Методом сплошного скрининга было проведено исследование микробиоценоза кишечника 167 больных, подписавших добровольное информированное согласие. Биоматериал от пациентов доставляли в лабораторию научной группы Антибиотикорезистентности пищевых патогенов на базе ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, в стерильных контейнерах. Исследование микробиоценоза кишечника проводилось методом серийных разведений с последующим высевом на селективные среды, в том числе, на разработанную во ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора питательную среду для детекции *Desulfovibrio* sp. Идентификацию выделенных штаммов бактерий осуществляли традиционными методами и методом матрично-активированной лазерной ионизации/времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с применением системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass v.4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). После определения вида микроорганизма производили пересчет количества его колоний на 1 г фекалий (КОЕ/г).

В лаборатории геномного редактирования ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии (руководитель Тюменцева М.А.) провели полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени на амплификаторе «QuantStudio 5 Real-Time ПЦР» (Thermo Scientific, США). Анализ результатов проводили с использованием программного обеспечения QuantStudio.

Измерение уровня гемоглобина проводилось на аппарате Mindray 6800, измерение сывороточного железа, трансферрина, ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки (НЖСС) и процента насыщения трансферрина железом на приборе Architect

16000 (Abbott, США), а ферритина – на Architect 2000 (Abbott, США) в клинико-диагностической лаборатории ФБУН ЦНИИ эпидемиологии (руководитель Тиванова Е.В.). Оценку показателей обмена железа в организме проводили по следующим показателям крови: гемоглобин, сывороточное железо, ферритин, трансферрин, ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки и процент насыщения трансферрина железом. Уровень гемоглобина оценивался по нормативным данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2011), которые составили для мужчин (15 лет и старше) 130 г/л, для небеременных женщин (15 лет и старше) 120 г/л [5]. Сывороточное железо, трансферрин, НЖСС и процент насыщения трансферрина железом оценивались по нормам Клинических рекомендаций Минздрава России «Железодефицитная анемия» от 2021 г. [6].

Расчет отношения шансов с 95% доверительным интервалом проводился с использованием программы StatTech v. 3.1.8 (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

Результаты и их обсуждение. Бактерии рода *Desulfovibrio* sp. были обнаружены у 66 (39,5%) пациентов. В этой группе количество человек с железодефицитной анемией (ЖДА) составило 16 (24,2%), без ЖДА – 50 (75,8%). В группе пациентов, у которых бактерии рода *Desulfovibrio* sp. не были обнаружены в биологическом материале, количество пациентов с лабораторно подтвержденным диагнозом ЖДА было 11 (10%), без ЖДА – 90 (89,1%). Вычисление отношения шансов показало, что шанс развития анемии повышается в 2,6 раза при наличии в кишечнике бактерий рода *Desulfovibrio* sp.

Таблица 2. Отношение шансов при анемии

Показатель	*Desulfovibrio* sp. «+»	*Desulfovibrio* sp. «-»	*p*-значение	ОШ	ДИ 95%
ЖДА есть	16; 24,2%	11; 10,9%	**0,03**	2,6	1,13–6,08
ЖДА нет	50; 75,8%	90; 89,1%	**0,03**		

Железодефицитная анемия одна из мировых проблем человечества, у которой множество факторов возникновения. В 2015 г. у 2,36 (2,35–2,37) млрд человек была диагностирована анемия [7]. Наше исследование впервые показало, что присутствие бактерий рода *Desulfovibrio* sp. повышает шансы развития железодефицитной анемии. Это подтверждают исследования Карначук и соавт. (2021), в ходе которых в микрофлоре кишечника у детей с диагностированным РАС выделили две чистые культуры *D. desulfuricans* и экспериментально доказали, что эти бактерии образуют нерастворимые комлексы железа. [8]. Также имеются научные публикации, где описаны возможные воздействия *Desulfovibrio* sp. на организм человека посредством превращения железа в

биологически недоступные формы сульфидов, вызывающие его дефицит. [9]. Данные исследования подтверждают наше предположение о роли сульфатредуцирующих бактерий, как об одном из факторов развития ЖДА.

Заключение. Возможно одним из этиологических факторов развития железодефицитной анемии у человека являются бактерии рода *Desulfovibrio* sp. Необходимо продолжить данные исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1 Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT. Growth and activities of sulphate-reducing bacteria in gut contents of healthy subjects and patients with ulcerative colitis. FEMS Microbiology Letters. 1991;2(86): 103–111. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1991.tb04799.x

2 Murros KE, Huynh VA, Takala TM, Saris PEJ. Desulfovibrio Bacteria Are Associated With Parkinson's Disease. Front Cell Infect Microbiol. 2021 May 3;11:652617. DOI: 10.3389/fcimb.2021.652617

3 Ikkert OP, Ivanov MV, Ukhova A, Zuysman VS. Desulfovibrio Isolate from the Microbiote of Children with Autistic Spectrum Disorders Immobilizes Iron in Poorly Soluble Crystalline Sulfides. Microbiology. 2021;90: 268–271. DOI: 10.1134/S0026261721020041

4 Goldstein EJ, Citron DM, Peraino VA, Cross SA. Desulfovibrio desulfuricans bacteremia and review of human Desulfovibrio infections. J Clin Microbiol. 2003 Jun;41(6):2752-4. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2752-2754.2003

5 ВОЗ, Концентрация гемоглобина для диагностики анемии и оценки ее тяжести. 2011. / VOZ, Kontsentratsiya gemoglobina dlya diagnostiki anemii i otsenki ee tyazhesti. 2011. (In Russian).

6 Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Железодефицитная анемия». 2021. / Klinicheskie rekomendatsii Ministerstva zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii «Zhelezodefitsitnaya anemiya». 2021. (In Russian).

7 GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet. 2016 Oct 8;388(10053):1545-1602. Erratum in: Lancet. 2017 Jan 7;389(10064):e1. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31678-6

8 Karnachuk OV, Ikkert OP, Avakyan MR, Knyazev YV, Volochaev NM, Zyusman VS, et al. Desulfovibrio desulfuricans AY5 Isolated from a Patient with Autism Spectrum Disorder Binds Iron in Low-Soluble Greigite and Pyrite. Microorganisms. 2021 Dec 10;9(12):2558. DOI: 10.3390/microorganisms9122558

9 Rickard D. The microbiological formation of iron sulphides //Stockholm Contributions to Geology. – 1969. – Т. 20. – С. 49-66.

TEMPLATE: Original Article

ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА РЕПЛИКАЦИЮ ВИРУСА И ЭКСПРЕССИЮ ХЕМОКИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Е.П. Быстрицкая[1], Д.Е. Киреев[2], М.Н. Носик[1], О.А. Свитич[1,3]

[1]ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, РФ

[2]ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, РФ

[3]ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, РФ

Аннотация

***Обоснование*:** Более 50% людей, живущих с ВИЧ, составляют женщины. Знаний о влиянии гормонов на скорость репликации вируса при ВИЧ-инфекции недостаточно.

***Цель исследования*:** Цель исследования – изучить влияние половых гормонов *in vitro* на репликацию ВИЧ-1 и экспрессию хемокиновых ко-рецепторов, способствующих проникновению вируса в клетку.

***Методы*:** МНК от здоровых доноров обрабатывали низкими и высокими концентрациями гормонов – 17β-эстрадиолом (E2) и прогестероном (P) (низкие концентрации эстрадиола и прогестерона 40 пкмоль и 32 нмоль; высокие концентрации 100 нмоль и 64 нмоль). МНК инфицировали ВИЧ-1 субтипом G и двумя вариантами суб-субтипа A6 (v1.A6,v2.A6). Вирусную нагрузку в образцах клеточных супернатантов определяли с помощью RT-qPCR.

***Результаты*:** Высокие дозы прогестерона повышали экспрессию корецепторов при инфицировании ВИЧ-1, субтипом G: в среднем для CCR5 в 3,1 раза и для CCR8 в 3,2 раза ($p < 0,0001$). Повышенная экспрессия корецепторов коррелировала с увеличением репликации вируса: на 3-5 lg, $p = 0,0038$. Низкие и высокие дозы эстрадиола не влияли на экспрессию корецепторов. Исключение составил один донор, у которого низкие дозы эстрадиола повышали экспрессию CCR8 в 1,9 раза и продукцию вируса на 0,1 lg, $p = 0,05$. В отношении суб-субтипа A6, ни низкие, ни высокие дозы гормонов не влияли на экспрессию корецепторов, хотя при высоких дозах наблюдалось усиление репликации вируса в среднем на 2 lg, $p = 0,0024$. Исключением оказался один донор, чьи МНК были инфицированы суб-субтипом A6 v2.A6, и у которого наблюдалось резкое увеличение экспрессии CCR5 в присутствии высоких доз эстрадиола и прогестерона: (более чем в 21 раз, $p < 0,0001$ для обоих случаев). Повышенная экспрессия корецепторов здесь коррелировала с увеличением продукции вируса на 2,5 lg, $p = 0,0018$.

***Заключение*:** Высокая концентрация гормонов способствует репликации ВИЧ-1 подтипа G и подтипа A6, хотя оказывает различное влияние на экспрессию ко-рецепторов. Разница в экспрессии генов ко-рецепторов в инфицированных МНК от разных доноров указывает на то, что индивидуальные генетические особенности организма хозяина также играют важную роль в восприимчивости клеток к инфекции ВИЧ-1.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека (ВИЧ); CCR; прогестерон; 17β-эстрадиол.

TEMPLATE: Original Article

EFFECT OF SEX STEROID HORMONES ON THE VIRUS REPLICATION AND CO-RECEPTORS' EXPRESSION IN HIV INFECTION

E.P. Bystritskaya[1], D.E. Kireev[2], M.N. Nosik[1], O.A. Svitich[1,3]

[1]I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

[2]Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

[3]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Background: More than 50% of all people living with HIV worldwide are women.There is limited knowledge regarding the effect of hormones on the rate of viral replication in HIV infection.

Aims: The goal of the study is to examine the effect of steroid hormones on HIV-1 replication and chemokine co-receptor' expression *in vitro*.

Materials and methods: Peripheral blood cells (PBMCs) from female donors were treated with different physiological concentrations of 17β-estradiol(E2) or progesterone(P): low (E2L 40pM; PL 32nM) and high (E2H 100nM; PH 64nM). PBMCs were infected with HIV-1 subtype G and two different A6 sub-subtypes variants (v1.A6,v2.A6). HIV viral load in culture supernatants was determined by RT-qPCR. The CCR5/CCR8 mRNA genes expression was measured by rRT-PCR.

Results: High dose of Progesterone upregulated the co-receptors expression: in average for CCR5 by 3.1 time and for CCR8 by 3.2 times, ($p<0.0001$ for both). Enhanced expression of co-receptors correlated with the increased viral replication: by 3-5 lg, $p = 0.0038$. Low and high doses of Estradiol had no effect on co-receptors' expression. The exception was one donor for whom low dose of Estradiol upregulated CCR8-expression by 1.9 times and virus production by 0.1lg, $p = 0.05$. As for sub-subtype A6, neither low doses of hormones, nor high didn't affect the expression of co-receptors, though for high hormone doses the upregulation of viral replication was detected in average by 2 lg, $p = 0.0024$. The exception was one donor who's PBMCs were infected by A6 sub-subtype v2.A6 and who showed a drastic increased CCR5 expression in the presence of high doses of Estradiol and Progesterone (more than 21 times, $p<0.0001$ for both). The enhanced co-receptors' expression correlated with increased virus production in average by 2.5 lg, $p = 0.0018$.

Conclusions: High hormones concentration promotes HIV-1 replication of subtype G and sub-subtype A6 though it has differing effects on the co-receptor's expression. The observed difference in co-receptor's expression in infected PBMCs from different donors indicates that the genetics of the host play an important role in the susceptibility of cells to HIV-1 infection.

Keywords: HIV, human immunodeficiency virus; CCR; progesterone; 17β-estradiol.

Обоснование

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) остается одной из основных проблем глобального общественного здравоохранения: на сегодняшний день этот вирус унес 40,4 миллиона человеческих жизней, а случаи инфицирования не уменьшаются [1]. По состоянию на 2022 год в мире по оценкам насчитывалось 39,0 миллиона человек, живущих с ВИЧ-инфекцией.

Более 50% людей, живущих с ВИЧ, составляют женщины. ВИЧ/СПИД в настоящее время является ведущей причиной смерти женщин репродуктивного возраста (15-45 лет) [1].

Согласно рекомендациям ВОЗ безопасные и эффективные методы гормональной контрацепции являются важным компонентом превентивной медицинской помощи с целью снижения материнской и младенческой смертности. На сегодняшний день применение гормональной контрацепции широко распространено [2]. Свыше 230 млн. женщин во всем мире применяют методы гормональной контрацепции [3]. Однако на протяжении последних лет чрезвычайную озабоченность у специалистов вызывает возможное повышение риска инфицирования ВИЧ-1 и передачи ВИЧ-1, вследствие употребления инъекционного контрацептива медроксипрогестерона ацетата (DMPA) [4,5]. Несмотря на обновленное руководство ВОЗ, использование DMPA остается спорным и вызывает вопросы у специалистов, поскольку многочисленные клинические и лабораторные данные свидетельствуют о том, что данный контрацептив способен повышать риск инфицирования ВИЧ. При этом, на сегодняшний день существует ограниченный объем знаний о непосредственном влиянии женских половых гормонов на репликацию вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1).

В данной работе представлены результаты исследования влияния женских половых гормонов, входящих в состав гормональных контрацептивов (17β-эстрадиол и прогестерон) на репликацию ВИЧ-1 суб-субтипа A6, преобладающего на территории Российской Федерации (85%), а также субтипа G, являющимся шестым по распространенности субтипом ВИЧ-1 в мире и способствующим появлению различных AG-рекомбинантных форм, циркулирующих на территории нашей страны.

Цель исследования: Цель исследования – изучить влияние половых гормонов *in vitro* на репликацию ВИЧ-1 и экспрессию хемокиновых ко-рецепторов, способствующих проникновению вируса в клетку.

Методы

Мононуклеарные клетки периферической крови человека (МНК) выделяли из крови ВИЧ-1 серонегативных женщин-доноров (9 доноров). Все доноры были репродуктивного возраста (25–35 лет), и на момент забора крови ни одна из них не принимала экзогенные гормоны. Чтобы максимально минимизировать различия между донорами, кровь забирали в овуляторную фазу менструального цикла (14-й день).

Выделенные МНК обрабатывали различными концентрациями гормонов – 17β-эстрадиолом (E2) и прогестероном (P). Низкие концентрации эстрадиола и прогестерона составили 40 пкмоль и 32 нмоль, соответственно; высокие концентрации составили 100 нмоль и 64 нмоль, соответственно.

Далее выделенные МНК инфицировали ВИЧ-1 субтипом G и двумя вариантами суб-субтипа A6 (v1.A6,v2.A6). Вирусную нагрузку в образцах клеточных супернатантов определяли

с помощью RT-qPCR на 7-й день инфицирования. Этот этап эксперимента проводился на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в Лаборатории диагностики и молекулярной эпидемиологии ВИЧ-инфекции.

Степень активности хемокиновых ко-рецепторов (CCR5 и CCR8) оценивалась посредством измерения уровня экспрессии этих генов методом ПЦР-РВ с обратной транскрипцией.

Для определения уровня экспрессии мРНК генов CCR5 и CCR8 из МНК доноров выделяли РНК с помощью реагента «Extract RNA» (Евроген, РФ) в соответствии с прилагаемой методикой. Затем проводили реакцию обратной транскрипции с использованием набора «ОТ-1» (Синтол, РФ). Полученная кДНК являлась матрицей для дальнейшего проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени. Использовался комплект реагентов «SYBR green» и синтезированные праймеры (Синтол, РФ). Эксперимент проводили в трех повторах. Реакцию проводили при следующих условиях: 1) 95°C - 5 мин - 1 цикл; 2) 95°C - 15 сек, 61°C - 50 сек - 40 циклов; 3) плавление. Бета-актин использовался в качестве эталонного гена для анализа экспрессии генов ко-рецепторов. Полученные данные подвергались статистическому анализу.

Этическая экспертиза

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2013) и было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБНУ «НИИВС им. И. И. Мечникова» (Протокол №2 от 03.11.20 г.).

Статистический анализ

Для статистической обработки полученных данных пороговых значений ct использовали метод нормализации $2^{-\Delta\Delta ct}$ [6]. Для проверки достоверности различий использовался непараметрический H-критерий Краскела-Уоллиса. Статистический анализ и визуализация данных проводилась с помощью программ MS Office Excel, GraphPad Prism (США).

Результаты

Низкие дозы прогестерона не влияли на экспрессию обоих корецепторов и имели тенденцию подавлять репликацию вируса в МНК, инфицированных ВИЧ-1 субтипом G, а также суб-субтипом A6, хотя это не было статистически значимым изменением ($p = 0,2$). Однако высокие дозы прогестерона повышали экспрессию корецепторов при инфицировании ВИЧ-1, субтипом G: в среднем для CCR5 в 3,1 раза и для CCR8 в 3,2 раза ($p < 0,0001$ для обоих). Повышенная экспрессия корецепторов коррелировала с увеличением репликации вируса: на 3-5

lg, p = 0,0038.

На рисунке 1 представлены медианные результаты индукции экспрессии генов хемокиновых ко-рецепторов МНК, инфицированных субтипом G при обработке прогестероном в высокой концентрации.

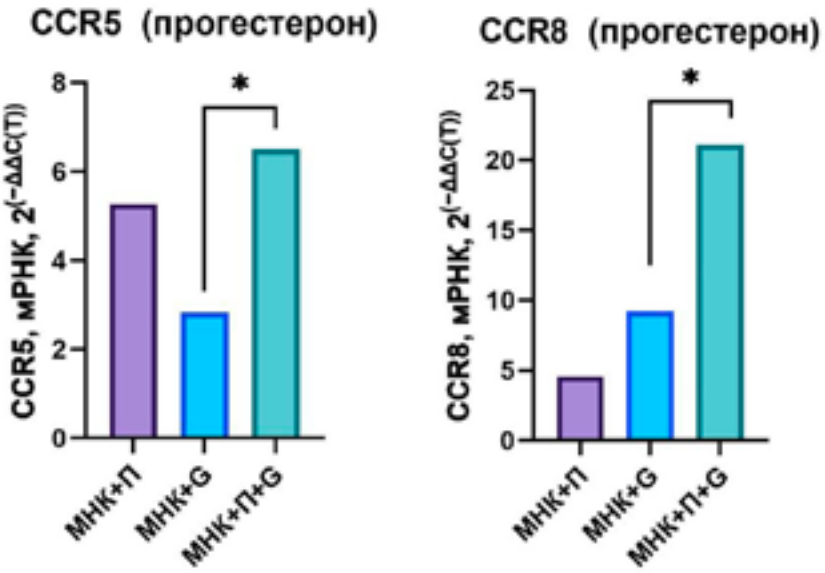


Рисунок 1. Медианные значения экспрессии мРНК CCR5 и CCR8 на МНК доноров, инфицированных ВИЧ-1 субтипа G, в присутствии высокой дозы (64 нмоль) прогестерона (П), * p <0,0001

Повышенная экспрессия ко-рецепторов коррелировала с увеличением репликации вируса: на 3-5 lg, p = 0,0038.

Низкие и высокие дозы эстрадиола не влияли на экспрессию корецепторов, p = 0,7. Исключение составил один донор, у которого низкие дозы эстрадиола повышали экспрессию CCR8 в 1,9 раза и продукцию вируса на 0,1 lg, p = 0,05, как представлено на рисунке 2.

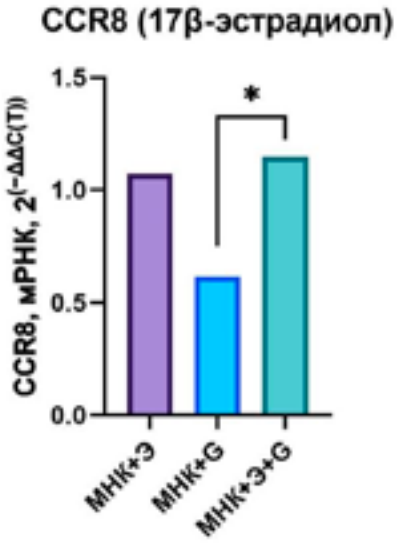


Рисунок 2. Экспрессия мРНК CCR8 на МНК донора, инфицированного ВИЧ-1 субтипа G, в присутствии низкой дозы (40 пкмоль) эстрадиола (Э), * p <0,0001

В отношении обоих вариантов суб-субтипа A6, как при низких дозах гормонов, так и при высоких наблюдалась тенденция к уменьшению экспрессии ко-рецепторов CCR5 и CCR8, однако это влияние не было статистически значимым, хотя при высоких дозах гормонов наблюдалось усиление репликации вируса в среднем на 2 lg, p = 0,0024.

На рисунке 3 показан пример влияния низкой концентрации эстрадиола на активность экспрессии CCR5 и CCR8 при инфицировании ВИЧ-1 суб-субтипом A6.

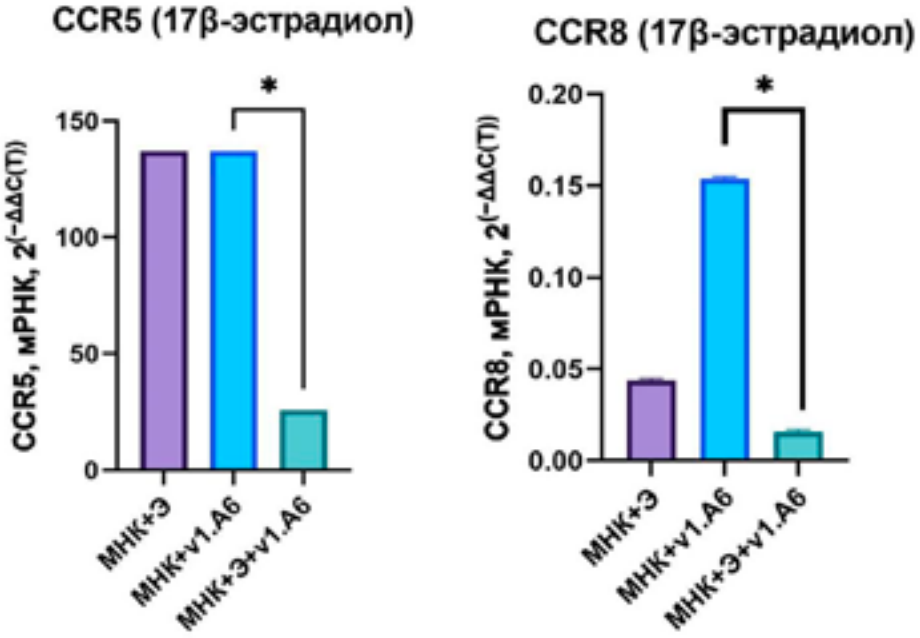


Рисунок 3. Медианные значения экспрессии мРНК CCR5 и CCR8 на МНК доноров, инфицированных ВИЧ-1 суб-субтипа A6, v1.A6 в присутствии низкой дозы (40 пмоль) эстрадиола (Э), * p <0,0001

Исключением из этой концепции оказался один донор, чьи МНК были инфицированы суб-субтипом A6 v2.A6, и у которого наблюдалось резкое увеличение экспрессии CCR5 в присутствии высоких доз эстрадиола и прогестерона: (более чем в 21 раз, $p < 0,0001$ для обоих случаев), как показано на рисунке 4. Повышенная экспрессия корецепторов в этом случае коррелировала с увеличением продукции вируса в среднем на 2,5 lg, $p = 0,0018$.

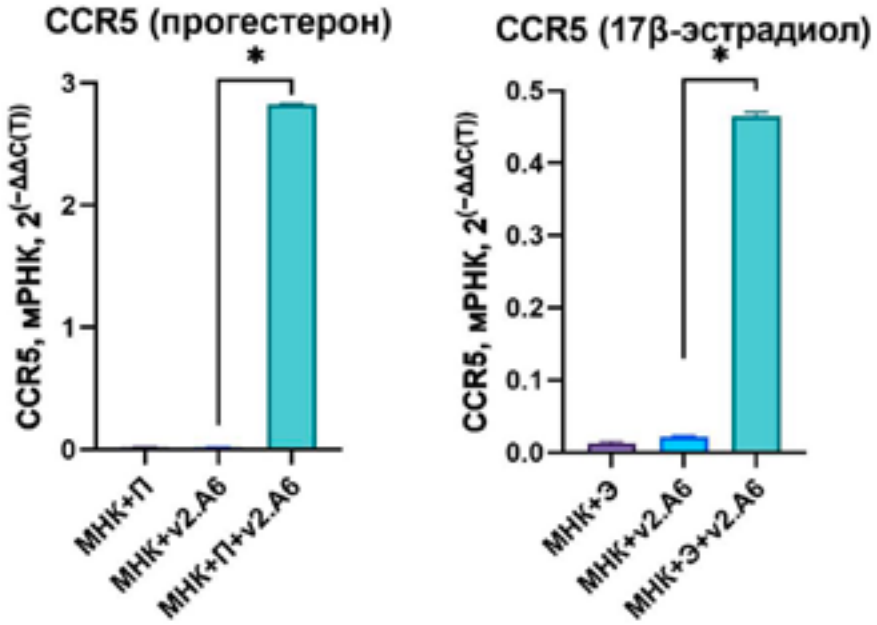


Рисунок 4. Экспрессия мРНК CCR5 на МНК донора, инфицированного ВИЧ-1 суб-субтипа A6, v2.A6 в присутствии высоких доз эстрадиола (Э), 100 нмоль, и прогестерона (П), (64нмоль) * $p < 0,0001$

Обсуждение

В ходе работы было выявлено, что высокие концентрации гормонов индуцируют репликацию ВИЧ-1 субтипа G и суб-субтипа A6, хотя оказывают различное влияние на экспрессию ко-рецепторов, что свидетельствует об отличии биологических свойств данных субтипов. Так, было показано, что при инфицировании субтипом G высокая доза прогестерона вызывает усиление экспрессии как ко-рецептора CCR5, так и CCR8. Хорошо известно, что ко-рецептор CCR5 играет одну из ключевых ролей, при инфицировании вирусом клетки. В настоящий момент имеются данные, что ВИЧ может использовать для проникновения в клетку такой альтернативный ко-рецептор, как CCR8, который также экспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов. Принимая во внимание важную роль данных ко-рецепторов при инфицировании клетки, усиление репликации вируса в присутствии гормонов может объясняться повышенной экспрессией данных хемокиновых рецепторов.

При инфицировании МНК доноров двумя вариантами суб-субтипа A6 не было выявлено существенных изменений в экспрессии ко-рецепторов CCR5 и CCR8 (исключение составил один донор) в присутствии гормонов, хотя при этом наблюдалось увеличение вирусной нагрузки. Учитывая, что наряду с ко-рецепторами CCR5 и CXCR4 ВИЧ-1 может использовать ряд других хемокиновых рецепторов (CCR2, CXCR3, CX3CR1, CCR3, CXCR6, CXCR7), то вполне вероятно, что стероидные гормоны изменяют секрецию данных ко-рецепторов, ответственных за проникновение вируса в клетки, что в свою очередь приводит к усилению вирусной нагрузки [7–10].

Выявленное значительное увеличение экспрессии CCR5 в МНК одного из доноров, инфицированных суб-субтипом A6 (v2.A6), в присутствии высоких доз эстрадиола и прогестерона, в значительной степени может быть объяснено генетическими факторами, обусловливающими специфические взаимоотношения вирус-хозяин, так как известно, что данные различия могут составлять до 5%.

Заключение

Показано, что половые женские гормоны оказывают различное влияние на экспрессию хемокиновых ко-рецепторов CCR при инфицировании МНК различными субтипами ВИЧ-1, и их экспрессия модулируется дозозависимым образом. В случаях повышенной экспрессии хемокиновых ко-рецепторов наблюдалось увеличение вирусной нагрузки. Подобная корреляция свидетельствует о том, что половые гормоны играют важную роль в репликации ВИЧ-1.

Наблюдаемая разница в экспрессии генов ко-рецепторов в инфицированных МНК от разных доноров указывает на то, что индивидуальные генетические особенности организма хозяина также играют важную роль в восприимчивости клеток к инфекции ВИЧ-1. Полученные результаты задают направление для дальнейшего изучения влияния гормонов на репликацию вируса, а также генетической экспрессии и белковой продукции других ко-рецепторов и иммунологических факторов организма с целью предикции заболевания и его предотвращения в рамках персонализированного подхода.

Источник финансирования

Исследование и публикация статьи осуществлены за счет финансирования в рамках государственного задания.

TEMPLATE: Original Article

Участие авторов

Быстрицкая Е.П. – проведение экспериментальной части, анализ данных, написание рукописи; Киреев Д.Е. – проведение экспериментальной части, анализ данных; Носик М.Н. – разработка концепции, проведение экспериментальной части, анализ данных, написание рукописи; Свитич О.А. – разработка концепции, анализ данных, написание рукописи.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nosik M., Berezhnya E., Bystritskaya E., et al. Female Sex Hormones Upregulate the Replication Activity of HIV-1 Sub-Subtype A6 and CRF02_AG but Not HIV-1 Subtype B // Pathogens. 2023. Vol. 12, № 7. P. 880. doi: 10.3390/pathogens12070880
2. Hapgood J.P., Kaushic C., Hel Z. Hormonal Contraception and HIV-1 Acquisition: Biological Mechanisms // Endocr Rev. 2018. Vol. 39, № 1. P. 36–78. doi: 10.1210/er.2017-00103
3. Noguchi L.M., Richardson B.A., Baeten J.M. et al. Risk of HIV-1 acquisition among women who use diff erent types of injectable progestin contraception in South Africa: a prospective cohort study // Lancet HIV. 2015. Vol. 2, № 7. P. e279-287. doi: 10.1016/S2352-3018(15)00058-2
4. Curtis K.M., Hannaford P.C., Rodriguez M.I., et al. Hormonal contraception and HIV acquisition among women: an updated systematic review // BMJ Sex Reprod Health. 2020. Vol. 46, № 1. P. 8–16. doi: 10.1136/bmjsrh-2019-200509
5. Morrison C.S., Chen P.L., Kwok C., et al. Hormonal contraception and the risk of HIV acquisition: an individual participant data meta-analysis // PLoS Med. 2015. Vol. 12, № 1. P. e1001778. doi: 10.1371/journal.pmed.1001778
6. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method // Methods. 2001. Vol. 25, № 4. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
7. Chatterjee A., Rathore A., Vidyant S., et al. Chemokines and chemokine receptors in susceptibility to HIV-1 infection and progression to AIDS // Dis Markers. 2012. Vol. 32, № 3. P. 143–151. doi: 10.3233/DMA-2011-0874
8. Wang Z., Shang H., Jiang Y. Chemokines and Chemokine Receptors: Accomplices for Human Immunodeficiency Virus Infection and Latency // Front Immunol. 2017. Vol. 8. P. 1274. doi: 10.3389/fimmu.2017.01274

9. Limou S., Coulonges C., Herbeck J.T., et al. Multiple-cohort genetic association study reveals CXCR6 as a new chemokine receptor involved in long-term nonprogression to AIDS // J Infect Dis. 2010. Vol. 202, № 6. P. 908–915. doi: 10.1086/655782
10. D'huys T., Claes S., Van Loy T., Schols D. CXCR7/ACKR3-targeting ligands interfere with X7 HIV-1 and HIV-2 entry and replication in human host cells // Heliyon. 2018. Vol. 4, № 3. P. e00557. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00557

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗНЫХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТА СУБЪЕДИНИЧНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА

Е.И. Василенко, А.С. Волынкина, А. М. Жиров

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Обоснование: Перспективным направлением исследований является разработка новых и совершенствование существующих препаратов для диагностики и специфической профилактики бруцеллеза, в т.ч. современных генно-инженерных субъединичных вакцин. Для решения этой задачи необходимо получение очищенных высокоспецифичных бруцеллезных антигенов, которые возможно использовать в качестве компонентов субъединичных вакцин.

Цель исследования: получение штаммов-продуцентов рекомбинантных бруцеллезных антигенов L7/L12, RibH1, FlgE для использования в качестве компонентов субъединичной вакцины против бруцеллеза, оптимизировать условия их наработки и очистки.

Методы*:* Конструирование плазмид для экспрессии антигенов проводили на основе вектора pET23b(+) (3665 п.н.) (Novagen). Клонирование целевой вставки проводили методом рестрикции-лигирования. Наличие экспрессии целевых белков в культурах подтверждали методом вестерн-блоттинга с использованием антител к гексагистидиновой метке.

Результаты: получены генетические конструкции: pET23b(+)-ribH1-HIS, pET23b(+)-FlgE-HIS, pET23b(+)-L7/L12-HIS для экспрессии целевых антигенов ribH1, FlgE и L7/L12 в клетках *E coli* под контролем промотора T7. Полученными рекомбинантными плазмидами трансформировали клетки штаммов *E. coli* BL-21 plys E, plys S stak, и Tuner. Максимальное количество белков ribH1 и L7/L12 выявлено в клетках *E. coli* BL-21 Tuner pET23b(+)-ribH1-HIS и *E. coli* BL-21 Tuner pET23b(+)-L7/L12-HIS, белка FlgE – в культуре *E. coli* BL-21 plys E pET23b(+)-FlgE-HIS. Подобраны оптимальные условия для экспрессии антигенов ribH1, FlgE и L7/L12: температура культивирования 37°C, время индукции 18ч при концентрация ИПТГ 1мМ, концентрация этилового спирта в питательной среде – 3%.

Заключение: В результате работы получены штаммы, экспрессирующие антигены ribH1, L7/L12 и FlgE, которые возможно использовать в качестве компонентов субъединичной вакцины против бруцеллеза, подобраны оптимальные условия их культивирования для увеличения экспрессии целевых антигенов. Необходимо проведение экспериментальной оценки биологической активности полученных рекомбинантных антигенов ribH1, FlgE и L7/L12, а также поиск дополнительных антигенов, способных вызывать иммунный ответ.

Ключевые слова: бруцеллез, рекомбинантные антигены, субъединичные вакцины.

Бруцеллез – особо опасная зоонозная инфекция, характеризующаяся поражением лимфоидной ткани, опорно-двигательного аппарата и нервной системы, склонная к хронизации. В настоящее время эпидемическая обстановка по заболеваемости бруцеллезом в РФ остается напряженной [1].

Перспективным направлением исследований является разработка новых и совершенствование существующих препаратов для диагностики и специфической профилактики бруцеллеза, в т.ч. современных генно-инженерных субъединичных вакцин. Для решения этой задачи необходимо получение очищенных высокоспецифичных бруцеллезных антигенов, которые возможно использовать в качестве компонентов субъединичных вакцин. В качестве потенциальных антигенов для субъединчных вакцин против бруцеллеза рассматриваются L7/L12 рибосомный белок; белки P39; BLS; OMP16; Cu/Zn SOD, белки наружной мембраны (OMP) B. abortus [14,21,24,37,40,39,43,45]. В рамках данного исследования осуществляли поиск и конструировали штаммы-продуценты рекомбинантных бруцеллезных антигенов для использования в качестве компонентов субъединичной вакцины против бруцеллеза [2-4].

В качестве потенциальных компонентов субъединичной рекомбинантной вакцины против бруцеллеза, в первую очередь рассматривали бруцеллезные белки, обладающие иммунопротективной активностью, размером от 100 до 700 аминокислот [4]. Кроме того, при выборе белков-кандидатов принимали во внимание результаты оценки консервативности аминокислотной последовательности антигенных белков – для дальнейшей работы выбирали белки с минимально возможным количеством аминокислотных замен, а также с преобладанием одной аллельной формы белкового продукта. В качестве системы экспресии выбран штамм *E. coli* – как самый простой и дешевый.

По результатам проведенного анализа доступных литературных данных об антигенной активности различных белковых структур бруцелл, и сравнительного анализа аминокислотных последовательностей белков было принято решение в качестве потенциальных компонентов субъединичной рекомбинантной вакцины против бруцеллеза использовать антигены L7/L12, RibH1, FlgE, провести их наработку и очистку.

Цель работы – создание высокоэффективных штаммов-продуцентов и подбор оптимальных условий экспрессии бруцеллезных антигенов ribH1, FlgE, L7/L12.

Материалы и методы: Конструирование векторов для экспрессии антигенов проводили на основе коммерческого плазмидного вектора pET23b(+) (3665 п.н.) (Novagen) для экспрессии белков в клетках *E. coli* под контролем промотора T7.

Дизайн генетической конструкции для экспрессии бруцеллезных антигенов в клетках *Escherichia coli* и подбор праймеров для амлификации целевой вставки проводили в программе

SnapGene. Клонирование целевой вставки проводили методом рестрикции-лигирования с использованием рестриктаз XbaI и XhoI (Thermo Scientific). Кодирующие последовательности доменов ribH1, FlgE, L7/L12 (558, 1237, 431 п.н. соответственно) нарабатывали методом ПЦР на основе ДНК штамма *B. abortus 19 BA* с использованием подобранных праймеров, в стркутуру которых были введены сайты действия рестриктаз и последовательность гексагистидиновой метки (6x-HIS-tag – 18 п.н.) - для обеспечения возможности очистки рекомбинантного белка методом металл-аффинной хроматографии и детекции белка методом вестерн-блоттинга. Размер целевой вставки для клонирования ribH1, FlgE, L7/L12 составил 558, 1237, 431 п.н. соответственно. Лигазной смесью трансформировали *E. coli* NEB Stable наложением электрического поля на приборе Gene Pulser Xcell Electroporation system (Bio Rad), селекцию трансформантов, содержащих целевую вставку проводили на среде с добавлением ампициллина (50 мкг/мл), последовательность целевой вставки проверяли секвенированием по Сэнгеру.

Результаты

В результате были получены генетические конструкции: pET23b(+)-ribH1-HIS (4106п.н.), pET23b(+)-FlgE-HIS (4785п.н.), pET23b(+)-L7/L12-HIS (3979 п.н.) для экспрессии целевых антигенов ribH1, FlgE и L7/L12, содержащие гексагистидиновую метку в клетках *Escherichia coli* под контролем промотора T7.

Полученными рекомбинантными плазмидами pET23b(+)-ribH1-HIS, pET23b(+)-FlgE-HIS, pET23b(+)-L7/L12-HIS трансформировали клетки штаммов *E. coli* BL-21 plys E, plys S stak, и Tuner. Для индукции экспрессии белков в питательную среду вносили IPTG до конечной концентрации 1мМ, время индукции составляло 3-4 часа. Наличие экспрессии целевых белков в лизированых культурах подтверждали методом вестерн-блоттинга с использованием антител к гексагистидиновой метке (Qiagen). Во всех лизатах клеточных культрур различных штаммов *E. coli* содержащих плазмидный вектор pET23b(+)-ribH1-HIS был выявлен рекомбинантный белок массой 17,6 кДа содержащий гексагистидиновую метку, однако в культуре *E. coli* BL-21 Tuner количество целевого белка было максимальным. Максимальное количество целевого белка L7/L12 массой 15,8 кДа так же было получено в лизате культуры *E. coli* BL-21 Tuner, а культура *E. coli* BL-21 plys E показала наибольший выход белка FlgE массой 40,8 кДа. Все экспрессируемые белки содержали гексагестидиновую метку и соответствовали расчетным размерам антигенов ribH1, FlgE и L7/L12(с учетом 6x-HIS-tag).

С целью увеличения количества целевого белка, получаемого с 1 л питательной среды исследовали влияние различных условий культивирования и наличие дополнительных компонентов в питательной среде в процессе экспресии. Так, увеличение концентрации ИПТГ в питательной среде, снижение температуры культивирования во время индукции не оказало положительного влияния на концентрацию целевого антигена. Однако, увеличение времени

индукции по температуре 37°С и дополнительное внесение этилового спирта до конечной концентрации 3%, значительно повысило количество получаемого белка. В ходе исследования были определены оптимальные условия для экспрессии антигенов ribH1, FlgE и L7/L12: температура культивирования 37°С, время индукции 18ч. при концентрация ИПТГ 1мМ, концентрация этилового спирта в питательной среде – 3%.

Из 100 мл индуцированной ИПТГ и лизированной культуры полученных штаммов-продуцентов проводили очистку целевого белка методом металл-аффинной хроматографии в нативных условиях. Наличие целевых белков в эллюирующем буфере после очистки было подтверждено методами SDS PAAG электрофореза и вестерн-блоттинга. В эллюатах выявлены белки ribH1, FlgE и L7/L12 содержащие гексагистидиновую метку с расчетными размерами экспрессируемых антигенов 17,6 кДа, 40,8 кДа и 15,8 кДа, соответственно.

В результате работы получены штаммы *E. coli* BL-21 Tuner-pET23b(+)-ribH1-HIS, *E. coli* BL-21 Tuner-pET23b(+)-L7/L12-HIS и *E. coli* BL-21 plys E- pET23b(+)-FlgE-HIS экспрессирующие антигены ribH1, L7/L12 и FlgE, подобраны оптимальные условия культивирования полученных штаммов для увеличения экспрессии целевых антигенов. Необходимо проведение экспериментальной оценки биологической активности полученных рекомбинантных антигенов ribH1, FlgE и L7/L12, а также поиск дополнительных антигенов, способных вызывать иммунный ответ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тазаян А.Н., Тамбиев Т.С., Васильев А.В., Никитеев П.А. Бруцеллез животных на территории ростовской области// Международный научно-исследовательский журнал. - 2022. - № 8 (122). С. 89-93.
2. Тагизаде Ф.Д. Результаты исследования эффективности предложенного модифицированного подхода к догоспитальной диагностике бруцеллеза// Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. - № 1. - 52-55
3. Нурлыгаянова Г.А., Белоусов В.И., Варенцова А.А., Шарыпов А.С., Шубина Е.Г., Скляров О.Д., Черных О.Ю. Бактериологическая и серологическая диагностика бруцеллеза животных в Российской Федерации, 2014 - 2018 годы//Ветеринарная патология – 2020. - № 3 (73). - С. 15-22
4. Булашев А.К., Акибеков О.С., Сыздыкова А.С., Сураншиев Ж.А., Ескендирова С.З. Серологический потенциал рекомбинантных белков Brucella spp. в диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота//Вестник нгау (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2020. - № 1 (54). – С. 56-64

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ БРУЦЕЛЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СУБЪЕДИНИЧНОЙ ВАКЦИНЫ ОТ БРУЦЕЛЛЕЗА

А.М. Жиров

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Обоснование: В настоящее время стоит острая необходимость в разработке эффективных и безопасных противобруцеллёзных вакцин, которые при определённых условиях можно было бы использовать для иммунизации людей. Исследования по изысканию надёжных средств специфической профилактики бруцеллёза связаны с разработкой субъединичных вакцин, что требует получения высокочистых антигенов в значительных количествах.

Цель исследования: разработка эффективной технологии получения рекомбинантных антигенов бруцелл в клетках *E. coli*.

Методы: В работе использовали 1031 полногеномную последовательность *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis*. Аннотации геномов получали с помощью программы «DFast», множественное выравнивание аминокислотных последовательностей проводили с использованием пакета «DECIPHER» для R. Физико-химические параметры белков рассчитывали с помощью пакета «Peptides». Штаммы-продуценты рекомбинантных антигенов бруцелл получали с использованием штамма *E. coli* BL-21 Tuner с плазмидным вектором pET23b(+). Лизаты получали при разрушении клеток штамма-продуцента на ультразвуковом гомогенизаторе. Очистку рекомбинантных антигенов проводили на жидкостном хроматографе с использованием металл-хелатной и ионно-обменной хроматографии.

Результаты: В данной работе была проведена биоинформационная оценка физико-химических свойств антигенов бруцелл, позволяющая определить наиболее перспективные антигены бруцелл. Была впервые описана вариабельность отдельных антигенных белков *Brucella* spp. Показано, что аминокислотные замены в белках L7/L12, FlgE и RibH1 локализованы в B-клеточных эпитопах. Разработана технология получения высокоочищенных рекомбинантных антигенов бруцелл в *E. coli* с сохранением нативной структуры.

Заключение: Созданные штаммы-продуценты рекомбинантных антигенов бруцелл разработаны с учетом физико-химических параметров антигенных белков, а также их вариабельности и распространения отдельных аллельных вариантов в популяции. Разработанная методика препаративного выделения антигенов бруцелл позволяет провести все необходимые этапы иммунологических и структурных исследований, необходимых для разработки субъединичной вакцины от бруцеллеза.

Ключевые слова: бруцеллез, *Brucella* spp., вакцина, антигены.

В настоящее время стоит острая необходимость в разработке эффективных и безопасных противобруцеллёзных вакцин. Существующие живые вакцины имеют ряд серьезных недостатков и в целом оцениваются как небезопасные. Разработка новых эффективных безопасных средств специфической профилактики бруцеллёза ведется во многих странах мира [1, 2]. Активное развитие направления субъединичных вакцин связанно в первую очередь и безопасностью их применения.

Основу субъединичной вакцины составляет один или несколько иммунопротективных антигенов патогена. Большое значение имеет выбор антигена широкого спектра действия, способного вызывать защиту от различных штаммов бруцелл и индуцировать как клеточный, так и гуморальный иммунитет. К наиболее известным антигенам бруцелл относят липополисахарид, белки наружной мембраны (Omp10, Omp16, Omp19, Omp25, Omp31), периплазматические белки (Omp28, супероксиддисмутаза Cu-Zn-SOD), рибосомные белки, белки системы секреции IV типа VirB, белки теплового шока и другие [3, 4]

Важно учитывать, что помимо выбора антигена на эффективность протективного иммунного ответа влияют следующие факторы: адъювант, система доставки, доза, схема и путь введения вакцины, биомодель (вид, пол, возраст), штамм для заражения (доза, путь введения, период между иммунизацией, заражением и оценкой бактериальной нагрузки) [5].

Цель работы: разработка эффективной технологии получения рекомбинантных антигенов бруцелл в клетках *E. coli* с использованием жидкостной хроматографии.

В работе использовали полногеномные последовательности, депонированные в международной базе данных NCBI Genbank, а также полученные на базе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Аннотации геномов получали с использованием «DFast», расчет физико-химических параметров и индексов белков рассчитывали с помощью пакета «Peptides» для R, а выравнивание аминокислотных последовательностей проводили в пакете «DECIPHER». В качестве референса использовали аминокислотные последовательности белков штамма *B. abortus* 2308.

Штаммы-продуценты рекомбинантных антигенов бруцелл получали с использованием штамма *E. coli* BL-21 Tuner с плазмидным вектором pET23b(+). Для получения лизатов клеток штамма-продуцента, выращенных в бульоне LB при 37 °C, клетки осаждали центрифугированием при 6000 g в течение 10 мин. Осадок промывали и обрабатывали на ультразвуковом гомогенизаторе 10 минут при частоте 60 кГц на ледяной бане. Нерастворимые компоненты осаждали при 10000 g в течение 10 мин. Наличие целевого белка в клеточных лизатах, осадка и супернатанта подтверждали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле и вестерн-блоттинга.

Очистку целевых белков проводили с помощью метода жидкостной хроматографии при 4 °C. Первичную очистку белков осуществляли методом металл-хелатной аффинной хроматографии на колонках 16×100 мм, элюирование проводилось в градиенте концентрации имидазола (10-500 мМ). Финишную очистку белков осуществляли методом ионно-обменной хроматографии на колонке с катионным сорбентом 16×100 мм, элюирование проводилось в градиенте концентрации хлорида натрия (10-1000 мМ). Обессоливание и перевод белков в другой буфер проводили на гель-фильтрационной колонке 26×100 мм.

Отбор белков-кандидатов проводили из списка белков с экспериментально доказанной протективной активностью, кроме того, рассматривались белки с предсказанной антигенностью [6-8]. Оценку белков проводили с помощью расчета *in silico* критически важных параметров белков, в частности: молекулярная масса, заряд белка при физиологическом pH, растворимость, термолабильность, а также индексы нестабильности и гидрофобности.

В результате проведенного анализа, наиболее полно указанным критериям отбора соответствуют белки L7/L12, RibH1 и FlgE. Белок L7/L12 содержит 124 аминокислоты, является частью рибосомного стебля, который помогает рибосоме взаимодействовать с факторами трансляции, связанными с ГТФ и необходим для точной трансляции. Белок L7/L12 можно охарактеризовать как высоко консервативный, референсный вариант (*B. abortus* 2308) белка встречается у 99 % штаммов *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis*, варианты с отличной аминокислотной последовательностью не имеют широкого распространения. Всего было обнаружено 4 аминокислотных замены и 1 делеция у 7 штаммов из 1031, для которых доступны в открытом доступе полногеномные последовательности. Важно отметить, что все замены расположены в области B-клеточных эпитопам. В белке RibH1 было обнаружено 11 аллельных вариантов с 9 аминокислотными заменами, часть которых также относится к B-клеточных эпитопам. Белок FlgE относится к белкам-флагеллинам, формирующим жгутик у бруцелл. Эксперименты на биомоделях показали, что данный белок необходим для установления стойкого заболевания мышей. Кроме того, FlgE потенциально может обладать иммуно-адъювантной активностью через активацию системы TLR5. В белке FlgE было обнаружено 16 аллельных вариантов, которые включают в себя 14 уникальных аминокислотных замен, 9 из которых относится к B-клеточных эпитопам.

На основании глобальной оценки физико-химических свойств и вариабельности выбранных антигенов нами была отобраны наиболее распространенные варианты генов. В качестве подходящего штамма-донора нами был выбран вакцинный штамм *Brucella abortus* 19BA. Нуклеотидные последовательности генов были использованы для создания штаммов-продуцентов рекомбинантных антигенов бруцелл *E. coli* с плазмидным вектором pET23b(+).

Схема получения и очистки белков из бактериальной массы *E. coli* включает в себя осаждение микробных клеток центрифугированием, их разрушение под действием ультразвука и двухстадийную хроматографическую очистку в нативных условиях. На первой стадии используется металл-аффинная хроматография, на которой отбираются белки с гистидиновой меткой и белки с высоким содержанием гистидина. На втором этапе происходит финишная очистка целевого белка от примесей с использованием ионообменной хроматографии. Разделение происходит по разности суммарного заряда у целевого белка и примесей. Наличие целевых белков в элюирующем буфере после очистки подтверждали методами электрофореза п полиакриламидном геле и вестерн-блоттинга. В элюатах выявлены белки RibH1, FlgE и L7/L12, содержащие гексагистидиновую метку, с молекулярной массой 18 кДа, 41 кДа и 16 кДа, соответственно. Эти размеры соответствуют расчетным размерам экспрессируемых антигенов.

После оптимизации условий хроматографии, одностадийная очистка (IMAC) позволяет получить целевые белка с чистотой 86-95 %, а после двух этапов очистки (IMAC+IEX) чистота белков составила более 98 %. Выход белка с 1 л культуры составил от 25 до 60 мг (таблица 1).

Таблица 1. Результаты препаративной очистки рекомбинантных белков бруцелл

Белок	Чистота белка		Выход белка с 1 л культуры
	IMAC	IMAC + IEX	
L7/L12	86 %	>98 %	25 мг
FlgE	95 %	>98 %	60 мг
RibH1	92 %	>98 %	48 мг

Таким образом, в ходе выполнения данной работы была проведена биоинформационная оценка физико-химических свойств антигенов бруцелл, позволяющая определить наиболее перспективные антигены бруцелл. Была впервые описана вариабельность отдельных антигенных белков *Brucella* spp. Показано, что аминокислотные замены в белках L7/L12, FlgE и RibH1 локализованы в В-клеточных эпитопах. Разработана технология получения высокоочищенных рекомбинантных антигенов бруцелл в *E. coli* с сохранением нативной структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н. Бруцеллёз. Современное состояние проблемы (издание второе, дополненное). – Нижний Новгород: Союзполиграф : Кириллица, 2003 – 356 с.

2. O'Callaghan D. Human brucellosis: recent advances and future challenges / D. O'Callaghan // Infect Dis Poverty – 2020. – Vol. 9. - P. 101. DOI: 10.1186/s40249-020-00715-1.

3. Immunogenic and protective antigens of Brucella as vaccine candidates / J.F. Masjedian, S. Razavi, R. Mirnejad R., Zamani K. // Comp Immunol Microbiol Infect Dis. – 2019. – Vol. 65. – P. 29–36. DOI: 10.1016/j.cimid.2019.03.015.

4. Cloning, expression and purification of VirB 10 protein of *Brucella melitensis* and evaluation of its role as a serological marker for Brucella infection in experimental and natural host / P. Pathak, A. Kumar, P. Sarangi, S. Bhagyawant, D. Thavaselvam // Protein Expr Purif. – 2018. – Vol. 145. – P. 53–58. DOI: 10.1016/j.pep.2017.12.014.

5. Evaluation of Brucellosis Vaccines: A Comprehensive Review / M. Heidary, S. Dashtbin, R. Ghanavati, M. Mahdizade, N. Bostanghadiri, A. Darbandi, T. Navidifar, M. Talebi // Front. Vet. Sci. – 2022. – Vol. 9. – P. 925773. DOI: 10.3389/fvets.2022.925773.

6. Hisham Y. Identification of cross-protective potential antigens against pathogenic *Brucella* spp. through combining pan-genome analysis with reverse vaccinology / Y. Hisham, Y. Ashhab // J. Immunol. Res. – 2018. DOI: 10.1155/2018/1474517.

7. Identification of potential antigens from non-classically secreted proteins and designing novel multitope peptide vaccine candidate against *Brucella melitensis* through reverse vaccinology and immunoinformatics approach / U.S. Vishnu, J. Sankarasubramanian, P. Gunasekaran, Rajendhran J. // Infect. Genet. Evol. – 2017. – Vol. 55. – P. 151-158. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.09.015.

8. Screening of potential vaccine candidates against pathogenic *Brucella* spp. using compositive reverse vaccinology / X. Zai, Y. Yin, F. Guo, Q. Yang, R. Li, Y. Li, J. Zhang, J. Xu, W. Chen // Vet. Res. – 2021. – Vol. 52. – P. 75.

ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ НАСЕЛЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ: КАЧЕСТВЕННЫЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

П.В. Захаренкова

Кафедра госпитальной терапии №2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Аннотация

Цель. Изучить факторы, лежащие в основе нерационального применения антибиотиков (АБ) населением различных регионов Российской Федерации (РФ) путем проведения интервью.

Материал и методы. С февраля по июнь 2022 г. были проведены интервью среди респондентов, применявших системные АБ любой группы как без, так и с рецептом врача для лечения симптомов инфекционного заболевания. Для каждого из центров-участников (8 Федеральных округов (ФО) РФ, г. Москва, г. Санкт-Петербург) были разработаны индивидуальные критерии включения респондентов с учетом пола, возраста, образования и места жительства

Результаты. В исследовании приняли участие 300 респондентов в возрасте от 18 до 74 лет. В том числе 151 участник использовал АБ по назначению врача. Среди основных причин, по которым опрошенные предпочли прибегнуть к самолечению АБ, можно выделить: очереди у кабинета врача, трудности с записью к врачу в связи с загруженностью специалистов, длительное ожидание посещения врача на дому, положительный предшествующий опыт самостоятельного применения АБ. Подавляющее большинство опрошенных (97%) смогли беспрепятственно приобрести АБ в аптеке без рецепта врача. В 11% случаев инициатива о начале терапии АБ исходила от провизора на основании лишь описания симптомов заболевания. Среди участников исследования 19% сообщили о наличии АБ в домашней аптечке, часть из них использовали АБ для самолечения, уточнив, что это является привычной практикой. Только 44% опрошенных сталкивались с информационными материалами о правилах применения АБ и неблагоприятных последствиях самолечения в лечебных учреждениях, аптеках, средствах массовой информации.

Выводы. Проблема нерационального и избыточного потребления АБ по-прежнему актуальна в РФ, не смотря на меры, предпринимаемые государством. Получены данные, подтверждающие многофакторность проблемы антимикробной резистентности (АМР): недостаточный уровень знаний о действии АБ и АМР, распространенная практика самолечения, безрецептурный отпуск АБ в аптеках, влияние окружения на принятие решения о применении АБ. Результаты данного исследования могут быть использованы для разработки различных будущих инициатив, направленных на изменение практики применения АБ.

***Ключевые слова*:** антибиотики, интервью, антимикробная резистентность, качественное исследование.

THE CULTURE OF ANTIBIOTIC USE AMONG THE POPULATION OF VARIOUS REGIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION: A QUALITATIVE COMPARATIVE ANALYSIS

Author

Polina Zakharenkova

Affiliation

Internal medicine department #2, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract

Objective. Assess the practice of using antibiotics (AB) by the population of various regions of the Russian Federation (RF), by studying attitudes, behavior and knowledge about AB.

Material and methods. The survey was conducted from February to June 2022 as part of a multicenter qualitative study in the form of a semi-structured interview among respondents from 18 to 74 years old who used systemic ABs of any group with or without a doctor's prescription for the treatment of symptoms of a confirmed or probable infectious disease for 3 months prior to the study. Individual inclusion criteria for respondents were developed for each of the participating centers (8 Federal Districts (FD) of the Russian Federation, Moscow, St. Petersburg), considering gender, age, education and place of residence to ensure the representativeness of the sample of the general population.

Results. The study involved 300 respondents aged 18 to 74 years. Of these, 151 participants used AB as prescribed by a doctor. Among the main reasons why respondents chose to resort to self-medication of ABs, the following can be identified: queues at the doctor's office, difficulties in making an appointment with a doctor due to the workload of specialists, long waits for visiting a doctor at home, positive previous experience of self-use of ABs. The vast majority of respondents (97%) were able to easily purchase ABs in a pharmacy without a doctor's prescription. In 11% of cases, the initiative to start AB therapy came from the pharmacist based only on a description of the symptoms of the disease. It should be noted that 19% of study participants reported having ABs in their home medicine cabinet, some of them used ABs for self-medication, specifying that this is a common practice. Only 44% of respondents came across information materials about the rules for using ABs and the adverse consequences of self-medication in medical institutions, pharmacies, and the media.

Conclusions. The problem of excessive and irrational use of AB among the population in the Russian Federation still exists despite the ongoing measures. A lack of knowledge about antibiotics and low awareness of the problem of antimicrobial resistance were identified, and factors contributing to self-medication were identified. The data obtained can serve as a basis for the development of future initiatives to ensure the proper use of AB and, therefore, help to reduce the rate of selection of resistant microorganisms in the regions of the Russian Federation.

Keywords: antibiotics, interviews, antimicrobial resistance, qualitative research.

Введение

Устойчивость к антибиотикам (АБ) - глобальная проблема современной цивилизации, приводящая к росту заболеваемости и смертности от инфекций, а также к значительным экономическим потерям [1-3].

К факторам, способствующим распространению антибиотикорезистентности, относятся избыточное использование АБ в медицине и ветеринарии, применение одних и тех же классов АБ у человека и животных, их нерациональное использование в животноводстве, в том числе в качестве стимуляторов роста [4-5]. Наряду с этим в РФ широко распространена практика самолечения АБ, которая подкрепляется возможностью их приобретения в аптечных учреждениях без рецепта врача [6].

Ситуация ухудшилась и стала еще более критической и значимой во время пандемии COVID-19 из-за увеличения частоты нерациональных назначений АБ [7,8].

Доступен ряд национальных руководств, нацеленных на грамотное использование антимикробных препаратов (АМП), и некоторые меры, направленные на снижение АМР в России, продемонстрировали положительный, однако, не достаточный эффект на практику использования АБ [9,10].

С целью сокращения нерационального использования АМП и сдерживания развития устойчивости к АБ необходимо четкое понимание мотивации пациентов к использованию АБ с акцентом на их знания, отношение и поведение в отношении АБ и АМР.

Материалы и методы

Исследование проводилось в восьми ФО РФ, каждый из которых был представлен двумя городами и, независимо от ФО, в г. Москве и г. Санкт-Петербурге. Количество респондентов в каждом субъекте-участнике исследования было определено пропорционально его доле в общей численности населения РФ. Исследование проводилось в формате полуструктурированного интервью [11].

Обучающие семинары для интервьюеров

До начала исследования все интервьюеры прошли обучающий онлайн-курс под руководством трех авторитетных исследователей из Копенгагенского университета, специализирующихся на проведении качественных исследований. Тренинг включал в том числе практическую часть с пробным интервью, его записью и анализом с последующей индивидуальной обратной связью.

Исследуемая популяция и критерии включения

Участниками исследования стали взрослые в возрасте от 18 до 74 лет, применявшие системный АБ любой группы для лечения симптомов инфекционного заболевания в течение 3-х месяцев, предшествующих исследованию.

Размер выборки для исследования составил 300 человек. На основании рассчитанной выборки с распределением по полу, возрасту, уровню образования и месту жительства (город/сельская местность) для каждого из 21 интервьюера из 18 городов-участников были предложены индивидуальные критерии включения участников. Распределение респондентов по каждому из критериев проводилась на основе данных Федеральной службы государственной статистики (Росстат, https://rosstat.gov.ru/), доступных на момент исследования.

На основании классификации ВОЗ, общий возрастной интервал был дополнительно разделен: 18–44 лет (молодой возраст), 45–59 лет (средний возраст); 60–74 года (пожилой возраст).

Учитывались три категории респондентов по уровню образования: высшее образование (профессиональное высшее, профессиональное послевузовское), среднее образование (профессиональное начальное, профессиональное среднее, неполное высшее), общее образование (общее среднее (полное)).

Отбор респондентов

Интервьюеры самостоятельно определяли оптимальный метод отбора респондентов для участия в исследовании. Чаще он осуществлялся в социальных сетях, аптечных учреждениях, поликлинике, стационаре, с помощью профессиональных организаций пациентов, личных контактов и др. Никто из интервьюеров не был ранее лично знаком ни с одним из опрашиваемых.

Сбор данных

Использовались две различные схемы проведения интервью: для респондентов, принимавших АБ по рецепту и без рецепта врача. План проведения состоял из двух основных частей:

- подробное описание последнего случая получения рецепта на АБ или покупки АБ;
- описание/размышление респондента о последнем случае покупки АБ/консультации с врачом в сравнении с предыдущими подобными случаями.

Все интервью записывались на аудио, а затем стенографировались; соответствие транскрипции аудиозаписи интервью проверялось координатором исследования.

Анализ данных

С целью получения достоверных и систематизированных данных, анализ производился поэтапно. На первом этапе, учитывая вариабельную последовательность вопросов в стенограммах, ответы из каждой стенограммы были дедуктивно идентифицированы и извлечены согласно основным разделам интервью. Затем, в каждом центре-участнике, ответы одного участника сравнивались с ответами других участников на одну и ту же группу вопросов из того же ФО. На третьем этапе, ответы каждой группы респондентов одного ФО сравнивались с ответами в других ФО. Соблюдение данной схемы анализа позволило получить полную картину типичного поведения, отношения и знаний об АБ.

Анализ проводился группой исследователей кафедры госпитальной терапии №2 ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России. Первый этап был выполнен экспертами независимо друг от друга, и, после обсуждения и корректировки результатов на серии дискуссионных встреч, было принято решение о возможности последующего совместного проведения второго и третьего этапов анализа. Такой подход был признан оптимальным для обеспечения максимальной надежности получаемых данных.

Этические аспекты

Проведение исследования одобрено Независимым этическим комитетом при ФГБУ ВО “Смоленский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол №238 от 23.12.2021 г.

Опрос проводился только после получения устного или письменного информированного согласия каждого участника на участие в исследовании. На всех этапах исследования были соблюдены необходимые меры по обеспечению анонимности участников.

Результаты

Были проанализированы интервью 151 респондента, применявшего АБ по назначению врача и 149 респондентов, использовавших АБ в рамках самолечения. Средний возраст женщин, включенных в исследование, составил 43,0 года (53,3%), мужчин - 40,3 лет. Респонденты с высшим, средним и общим образованием составили 31%, 49,1% и 19,7%, соответственно. Подавляющее большинство (75%) – городские жители.

Оценка практики применения АБ проводилась путем изучения отношения, поведения и знаний об АБ, как ключевых аспектов, лежащих в основе их нерационального использования.

Отношение

Чуть меньше четверти опрошенных сообщили о наличии АБ в домашней аптечке, дополнительно уточнив, что использование их для самолечения является привычной практикой. Следует отметить, в законодательстве РФ четко определены нормы, требующие наличие рецепта для приобретения АБ, однако лишь 3% опрошенных было отказано в безрецептурной продаже АБ, при этом, они приобрели АБ в другой аптеке. Во всех остальных случаях респонденты беспрепятственно купили АБ без рецепта врача в аптечных учреждениях регионов, в чем они не сомневались еще до планирования посещения.

Один из разделов опроса был посвящен оценке влияния пандемии COVID-19 на поведение в отношении использования АБ. Часть интервьюируемых изменили свое отношение к АБ: сформировалось ошибочное мнение, что препараты эффективны при пневмонии вирусной этиологии или могут применяться с целью профилактики осложнений COVID-19. Выявлено повышение спроса на АБ: желание респондентов приобрести АБ «про запас» или «на всякий случай» было обусловлено опасениями за свое здоровье или страхом дефицита АБ в аптеках.

Поведение

Основными причинами, по которым респонденты предпочли не обращаться к врачу, а прибегнуть к самолечению АБ были следующие: длительное ожидание записи на прием к специалисту, очереди у кабинета врача, страх перед контактом с дополнительным инфекциями в лечебном учреждении (в том числе с лицами, инфицированными SARS-CoV-2), нежелание оформлять листок нетрудоспособности, так как это экономически невыгодно.

Опрошенные как правило обсуждали проявления заболевания и лечение с друзьями и родственниками, не имеющими медицинского образования. Результатом такого обсуждения может стать совет о начале применения АБ и/или выборе конкретного АБ. Подобные рекомендации, полученные не от врача, являются абсолютно недопустимыми и, безусловно, способствуют нерациональному применению АБ и, как следствие, селекции устойчивых бактерий. В то же время это свидетельствует о высоком уровне доверия своему окружению, которое также необходимо вовлекать в планирующиеся информационно-образовательные мероприятия для населения с целью минимизации неблагоприятных последствий самолечения АБ.

Знания

Основными источниками информации об АБ для интервьюируемых являлись: интернет, печатные материалы, телевидение, беседа с врачом или близким окружением, знания, полученные в школе/ВУЗе.

Знания респондентов из всех регионов участников-исследования об АБ оказались не систематизированы и, часто, основаны на предположениях. Нередко регистрировались ошибочные суждения об АБ: “укрепляют или, наоборот, снижают иммунитет”, “убивают клетки организма”, “воздействуют на вирусы”.

Выявлен недостаточный уровень охвата населения просветительскими мероприятиями. Как правило, интервьюируемые не встречали информационные кампании или материалы об АБ для населения. Около трети опрошенных сталкивались с информационными плакатами и/или брошюрами в лечебных учреждениях, аптеках, роликами и передачами в интернете и по ТВ. Однако и в этом случае был продемонстрирован низкий уровень вовлеченности – респонденты не могли вспомнить или описать полученную информацию.

Заключение

Были выявлены важные особенности, касающиеся знаний, поведения и отношения населения к АБ: распространенная практика самолечения АБ в том числе обусловленная беспрепятственном приобретением АМП без рецепта врача, легким доступом к АБ из домашней аптечки, положительным опытом применения АБ. Значимое влияние на решение о начале антибактериальной терапии оказывают члены семьи и друзья, обычно не имеющие медицинского образования. Большую роль в селекции устойчивых микроорганизмов играет несоблюдение провизорами требований о рецептурном отпуске АБ. В период пандемии коронавирусной инфекции население стало чаще ошибочно использовать АБ с профилактической целью или для лечения COVID-19. В частности, это связано с недостаточным уровнем знаний о механизме действия и показаниях к применению АБ. Несмотря на продолжающиеся усилия по повышению осведомленности общественности, опрошенные не сталкивались с информационными кампаниями или материалами об АБ или не запомнили никакой полученной информации.

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Внешнее финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-10-2021-113, уникальный идентификатор проекта РФ----193021X0001)

ЛИТЕРАТУРА

1. Dadgostar P. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect Drug Resist*. 2019;12:3903-3910. Published 2019 Dec 20. doi:10.2147/IDR.S234610.
2. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(1):56-66. doi:10.1016/S1473-3099(18)30605-4.
3. Hofer U. The cost of antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(1):3. doi:10.1038/s41579-018-0125-x.
4. WHO. Factsheet No 194. Available at: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/
5. Рачина С.А. Оптимизация использования антимикробных препаратов в многопрофильном стационаре: чем может быть полезен анализ реальной клинической практики? *Московский медицинский журнал* 2012; №3: 5-11.
6. Balabanova Y, Fedorin I, Kuznetsov S, et al. Antimicrobial prescribing patterns for respiratory diseases including tuberculosis in Russia: a possible role in drug resistance?. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54(3):673-679. doi:10.1093/jac/dkh383
7. van Duin D, Barlow G, Nathwani D. The impact of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance: a debate. *JAC Antimicrob Resist*. 2020;2(3):dlaa053. doi:10.1093/jacamr/dlaa053.
8. Clancy CJ, Buehrle DJ, Nguyen MH. PRO: The COVID-19 pandemic will result in increased antimicrobial resistance rates. *JAC Antimicrob Resist*. 2020;2(3):dlaa049. doi:10.1093/jacamr/dlaa049
9. Бодяева Е.В., Рачина С.А., Отвагин И.В., и соавт. Анализ эффективности комплексного вмешательства у пациентов с острым тонзилло-фарингитом в амбулаторной практике Смоленска. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер* 2011; №1: 46-55.
10. Гусаров В.Г., Нестерова Е.Е., Оприщенко И.В., и соавт. Клинические и фармакоэкономические результаты использования Протокола эмпирической антимикробной терапии в многопрофильном стационаре. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова* 2015; 10: 100–4.
11. Kaae, S., Sporrong, S. K., Traulsen, J. M. et al. (2016). Experiences from a Pilot Study on How to Conduct a Qualitative Multi-Country Research Project Regarding Use of Antibiotics in Southeast Europe. J. Pharm. Pol. Pract 9 (1), 20. doi:10.1186/s40545-016-0069-3

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Захаренкова Полина Владимировна [Zakharenkova Polina Vladimirovna]

- Polina V. Zakharenkova
    - Адрес: 241035, РФ, г Брянск, ул. Куйбышева 3; [address: 241035, Russia, Bryansk, Kuibysheva 3];
    - Тел: +7 (900) 371-31-32
- ORCID 0009-0006-9188-5466
- E-mail: Polina.antoschkina@yandex.ru

НОВЫЙ КОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПОРТАТИВНЫХ УСТРОЙСТВАХ ОТ НАПАДЕНИЙ КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ

С.А. Зверев[1], Ю.А. Игнатова[2], В.М. Аристова[2], Е.В. Ушакова[1]

[1]Институт дезинфектологии ФБУН "ФНЦГ имени Ф.Ф. Эрисмана" Роспотребнадзора, Москва, Россия

[2]Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, РТУ МИРЭА, Москва, Россия

Аннотация

Неспецифическая профилактика инфекционных заболеваний, передающихся кровососущими насекомыми, является неотъемлемой частью борьбы с распространением патогенных микроорганизмов во всем мире. Традиционные методы борьбы с кровососущими комарами не всегда отвечают современным требованиям эффективности и безопасности и не обеспечивают необходимую защиту человека от таких заболеваний, как малярия. Одним из направлений повышения эффективности репеллентных средств может стать их использование при создании композитных материалов. В этой работе предложен композитный материал на основе углеродных нанотрубок и репеллента *N,N*-диэтилметилбензамида, обладающий низким удельным сопротивлением порядка 0.5 Ом*м, что в свою очередь обеспечивает эффективный нагрев субстанции при подведении невысокого напряжения (до 3В). Поскольку диффузия *N,N*-диэтилметилбензамида с поверхности материала зависит от подаваемого напряжения, можно изменять концентрацию выделяющегося в воздух репеллент, что позволяет обеспечивать эффективность применения средства в различных условиях. Было изучено репеллентное действие материала в отношение кровососущих комаров вида *Aedes aegypti*. По результатам проведенных энтомологических исследований было показано, что коэффициент репеллентного действия составляет свыше 87%, обеспечивая высокое защитное действие от нападений комаров. Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный композитный материал обеспечивает высокий уровень репеллентной защиты от нападений кровососущих насекомых и за счет механизма контролируемого высвобождения репеллента позволяет регулировать концентрацию действующего вещества, например, в зависимости от погодных условий или от численности комаров.

***Ключевые слова*:** неспецифическая профилактика инфекционных заболеваний, композитные материалы, контролируемое высвобождение, *N,N*-диэтилметилбензамид (ДЭТА), комары вида *Aedes aegypti*

NEW COMPOSITE MATERIAL FOR PORTABLE DEVICES TO REPEL BLOOD-SUCKING MOSQUITOES

S.A. Zverev[1], Yu. A. Ignatova[2], V.M. Aristova[2], E. V. Ushakova[1]

[1]Disinfectology Institute of F.F. Erisman FSCH of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

[2]Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, Russia

Abstract

Preventing infectious diseases transmitted by bloodsucking insects is crucial in the global fight against pathogen spread. Traditional methods of controlling mosquitoes may not always meet modern safety and effectiveness requirements, and may not provide adequate protection against diseases such as malaria. One way to enhance the efficacy of repellents is by incorporating them into composite materials. This work presents a composite material composed of carbon nanotubes and repellent *N,N*-diethylmethylbenzamide. The material has a low resistivity of approximately 0.5 Ohm*m, which enables effective substance heating at low voltage (up to 3V). The concentration of the repellent released into the air can be changed by altering the applied voltage, which affects the diffusion of *N,N*-diethylmethylbenzamide from the material's surface. This ensures the repellent's effectiveness in various conditions. The study examined the material's repellent effect on blood-sucking mosquitoes of the *Aedes aegypti* species. Based on the entomological studies, it has been demonstrated that the repellent action coefficient is over 87%, indicating a high level of protection against mosquito bites. The results indicate that the composite material developed provides effective protection against blood-sucking insects. The mechanism of controlled release of repellent allows for the regulation of the concentration of the active substance, depending on factors such as weather conditions or the number of mosquitoes.

***Keywords*:** non-specific prevention of infectious diseases, composite materials, controlled release, *N,N*-diethylmethylbenzamide (DEET), *Aedes aegypti* mosquitoes

Scientific direction: epidemiology and prevention of infectious and non-infectious diseases

Введение

Неспецифическая профилактика инфекционных заболеваний, передающихся кровососущими насекомыми, является неотъемлемой частью принимаемых во всем мире мер борьбы с распространением опасных штаммов микроорганизмов. В сложившейся эпидемиологической ситуации в странах с умеренным климатом, основными угрозами для человека являются прежде всего вирусы Денге, лихорадки западного Нила, вирусного энцефалита и др., переносчиками которых прежде всего являются кровососущие комары вида *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* [1]. Кроме того, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выделяет малярию как одну из главных проблем предстоящих десятилетий [2]. По прогнозам, тенденция к изменению климата для более чем 3 миллиардов людей будет сохраняться вплоть до 2050 года, что способствует распространению малярии и создает дополнительные угрозы для населения, поэтому уже сегодня ученые и специалисты со всего мира предпринимают усилия для обеспечения эпидемиологического благополучия населения.

Классическими методами борьбы с кровососущими комарами принято считать органические вещества с инсектицидным и репеллентным действием [3]. Применение таких веществ, как правило, подразумевает их нанесение на кожу человека или использование в присутствии людей, что может негативно отражаться на их здоровье[4]. Другой проблемой является снижение эффективности используемых препаратов, ввиду стремительно растущей резистентности кровососущих насекомых к пестицидам [5].

Возможным решением проблемы могут стать композитные материалы с репеллентным или инсектицидным действием. Как известно, композитные материалы состоят из нескольких компонентов, которые в своем сочетании приводят к появлению нового объекта со своими уникальными характеристиками. Первые разработки таких материалов в области медицинской энтомологии еще начались в начале прошлого века (например, сетка Павловского или прикроватные сетки), однако эти изделия с тех пор не претерпели существенных изменений и выпускаются по сей день практически в неизменном виде [6]. С другой стороны, новые композитные материалы с репеллентными свойствами нередко обладают больше фундаментальным значением для науки, в то время как биологический потенциал таких разработок неочевиден [7]. Поэтому чрезвычайно важным является разработка не только нового материала с уникальными свойствами, но и его высокая целевая эффективность и низкая токсичность.

Тенденцией современных исследований во многих областях здравоохранения является поиск и разработка композитных материалов с контролируемым высвобождением действующего

вещества [8]. Благодаря своим уникальным свойствам, такие материалы способным не только оказывать целевое действие на объект, но и снижать уровень загрязнения окружающий среды, вызываемый избытком применения токсичных веществ [9]. Таким образом, целью настоящего исследования является разработка и изучение свойств композитного материала с репеллентным действием в отношении кровососущих комаров.

Материалы и методы

Материалы

N,N-диэтилметилбензамид (ДЭТА) - Sigma Aldrich (США), гидроксиэтилцеллюлоза - Alpha Chemika (Индия), диметилсульфоксид (ДМСО) – Компонент-Реактив (Россия), углеродные нанотрубки – Tangfen Tech. (Китай), ацетонитрил - Honeywell (США), вода деионизованная.

Оборудование

Лабораторный мультиметр True RMS Owon (Китай), программируемый импульсный лабораторный источник питания SPE3103 Owon (Китай), устройство отбора воздуха УОПВ 4-220В-40 - НИКИ МЛТ (Россия), высокоэффективный жидкостной хроматограф с диодно-матричным детектором Thermo Ultimate 3000 (США).

Получение композитного материала на основе N,N-диэтилметилбензамид (ДЭТА)

В плоскодонной колбе на 100 мл смешивают раствор гидроксиэтилцеллюлозы (0.215 ммоль) с раствором *N,N*-диэтилметилбензамид (47 ммоль). В другой плоскодонной колбе на 100 мл смешивают углеродные нанотрубки с раствором диметилсульфоксида в соотношении 1:1 и вливают в первый раствор. Полученный состав тщательно перемешивают и хранят в закрытой таре.

Измерение удельного сопротивления композитного материала на основе N,N-диэтилметилбензамид (ДЭТА)

Полученный состав плотно упаковывают в пластиковый цилиндрический корпус, открытый с обоих концов. К свободным концам подсоединяют электроды, подключенные к настольному мультиметру для измерения сопротивления материала. После подключения мультиметра в сеть, проводят измерения (n=10) сопротивления полученного материала до достижения постоянных значений. Полученные значения (Ом) используют для расчета удельного сопротивления материала (Ом*м).

Определение концентрации N,N-диэтилметилбензамид (ДЭТА) при ее диффузии в воздух из композитного материала

Полученный композитный материал помещают в цилиндрическую форму (h=1.3см; d=1.5см), подсоединяют с разных концов 2 электрода, подключенных к источнику питания (так, чтобы они не соприкасались) и термопару. При установлении на источнике питания напряжения (1.5-5В), материал начинает постепенно разогреваться, что сопровождается выделением паров, содержащих репеллент. Для отбора проб воздуха используют устройство отбора воздуха с двумя последовательно подключенными поглотителями Зайцева, наполненными ацетонитрилом (10 мл). Воздух отбирают со скоростью 2 л/мин в течение 20 мин. После отбора воздуха пробы из поглотителей сливают в круглодонную колбу (50 мл), промывают ацетонитрилом поглотители и также сливают в колбу. Затем раствор упаривают на вакуумно-роторном испарителе и разбавляют до 10 мл в мерной колбе. Полученную пробу анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным детектированием при длине волны 200 нм.

Изучение репеллентного действия композитного материала в отношении кровососущих комаров Aedes aegypti

Оценка эффективности композитного материала оценивалась в отношение кровососущих комаров вида *Ae. Aegypti* в лабораторных условиях. Для этого была собрана установка, состоящая из трех кубических камер объемом 0.027 м^3 каждая, соединенных между собой переходниками в виде цилиндра диаметром 12 см и затянутых москитной сеткой. В крайнюю камеру помещали репеллентный композитный материал и нагревали его омическим способом до температуры (72±2) °С. В центральную камеру помещали 50 самок комаров, третью камеру оставляли пустой. Температура воздуха в помещении поддерживался на уровне (23±1) °С, относительное давление 765±1 мм рт. ст. В течение 15 минут каждую минуту фиксировали перемещения комаров между камерами. По окончании эксперимента, комаров извлекали из камер, проветривали, заменяли москитные сетки, и заново повторяли эксперимент в тех же условиях. Расчет коэффициента репеллентного действия X (%) рассчитывался по формуле (1):

$$X = \frac{(A_2 + A_3 - A_1)}{A_0} * 100\ \% \qquad (1),$$

где A_0 -число комаров, помещенных во 2 камеру в начале эксперимента, ед., A_2 - число комаров в 2 камере в ходе эксперимента, ед., A_1 - число комаров в 1 камере в ходе эксперимента, ед., A_3 - число комаров в 3 камере в ходе эксперимента, ед.

Обсуждение результатов

При создании материалов с контролируемым высвобождением действующего вещества необходимо, прежде всего, определить механизм активации. В данном исследовании, при разработке материала с репеллентными свойствами был выбран принцип активации репеллента посредством подаваемой на материал электроэнергии. Для придания материалу электропроводности мы использовали углеродные нанотрубки, которые как известно, обладают низким сопротивлением и следовательно, способны хорошо проводить электричество. Выбор гидроксиэтилцеллюлозы обоснован возможностью связывать используемые компоненты в полимерный слой, тем самым предотвращая преждевременное выделение репеллента. В качестве репеллента был выбран наиболее изученный *N,N*-диэтилметилбензамид (ДЭТА), обладающий репеллентным действием в отношении многих кровососущих насекомых.

Для оценки электропроводности разработанного материала, было проведено измерение его удельного сопротивления, которое показало, что полученный состав обладает сопротивлением порядка (0.52±0.04) Ом*м, что соответствует показателям полупроводников. Полученные значения показывают, что такой материал способен проводить электроэнергию с низким сопротивлением, что приведет к нагреву композита при подведении невысокого напряжения.

Определение термодинамических свойств разработанного материала проводилось при подведении тока напряжением от 1.5 до 5В через лабораторный источник питания с целью фиксирования изменения температуры нагрева в течение 2 часов (рис. 1). Полученные результаты показывают, что при подведении напряжения в 5В материал быстро нагревается, что приводит к интенсивному выделению летучих соединений и последующему возгоранию, поэтому время эксперимента ограничивается несколькими минутами. С другой стороны, при подведении напряжения 1.5 и 2В температура материала изменяется равномерно в течение всего эксперимента. Полученные результаты позволяют судить о рабочих диапазонах композитного материала с ДЭТА, что в дальнейшем даст возможность управлять высвобождением репеллента для достижения высокой целевой эффективности.

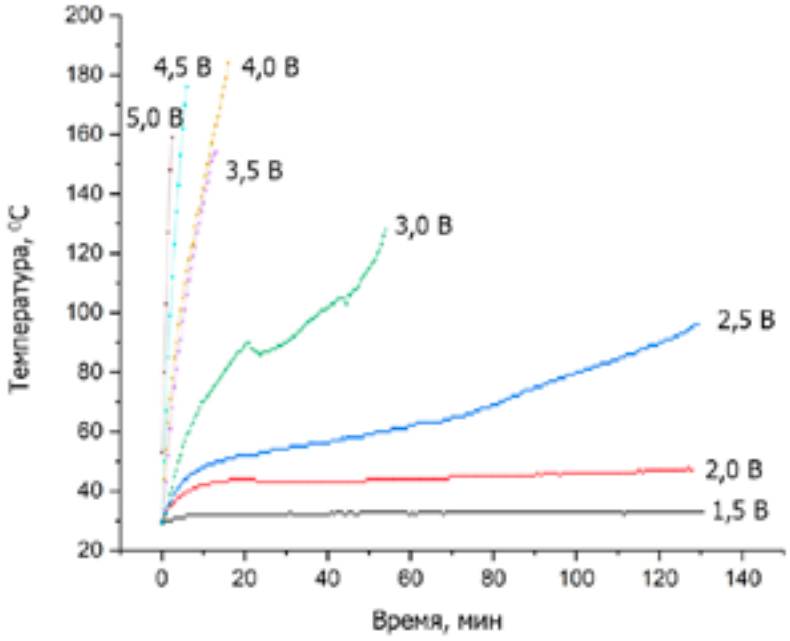


Рисунок 1. Измерение температуры нагрева композитного материала в течение 2 часов при подведении напряжения от 1.5 до 5В

В рамках исследований по определению концентрации репеллента ДЭТА в воздухе при подведении различного напряжения (до 3В) было определено, что композитный материал практически не диффундирует ДЭТА со своей поверхности при 1.5В. По-видимому, это связано с низкой температурой нагрева, при которой репеллент не способен преодолевать полимерный слой гидроксиэтилцеллюлозы. Поэтому эксперименты по определению концентрации ДЭТА в воздухе были проведены при напряжении 2-3В. Полученные результаты показали, что концентрация репеллента в воздухе растет при повышении температуры нагрева материала, причем при значениях выше 85 °C наблюдается резкий скачок концентраций, значительно превышающий ПДК ДЭТА в воздухе (5 мг/м^3) (рис. 2). Таким образом было определено, что для успешной диффузии репеллента с поверхности материала необходимо достичь нагрева системы, посредством подведения напряжения в 2.5В и температуры не выше 85 °C.

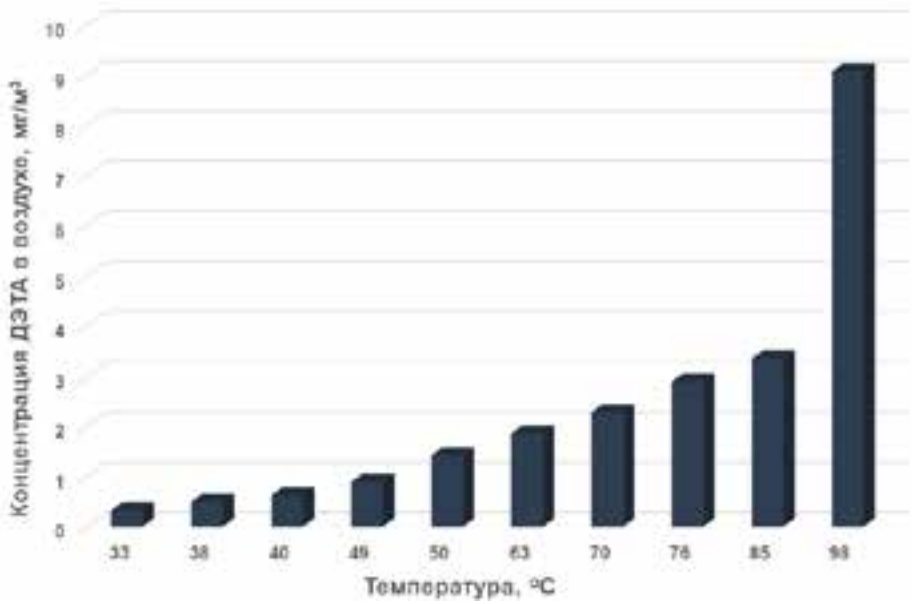


Рисунок 2. Диаграмма роста концентрации *N,N*-диэтилметилбензамида (ДЭТА) от температуры нагрева материала

Эффективность разработанного композитного материала была изучена на самках комаров вида *Ae. aegypti*. Для этого была собрана лабораторная установка из трех камер, затянутых плотной сеткой со всех сторон, где во вторую камеру помещалось 50 самок комаров, а в крайние помещался композитный материал, подключенный к внешнему источнику питания (рис 3). По результатам проведенных энтомологических исследований, был рассчитан коэффициент репеллентного действия, который составил 87.1% (СКО 4.1%) (табл. 1). Кроме того, в ходе эксперимента было обнаружено, что комары под действием ДЭТА, выделяемой из композитного материала, практически не перемещались в камерах в конце эксперимента, теряя свою мобильность. Те комары, которые все же оказывались в камере с композитным материалом, находились в ее углах практически не двигаясь. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой репеллентной активности разработанного композитного материала, оказывая на комаров нокаутирующее действие при контролируемом выделении ДЭТА.

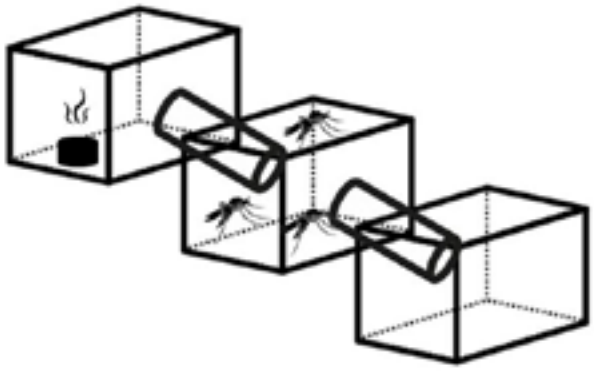


Рисунок 3. Схема лабораторной установки для определения репеллентной активности композитного материала в отношение комаров вида *Aedes aegypti*

Таблица 1. Результаты определения коэффициента репеллентного действия композитного материала в отношение кровососущих комаров вида *Ae. Aegypti*

№ эксп.	Коэффициент репеллентного действия X, %	Среднеквадратичное отклонение (СКО), %	
1	87.1	4.08	**87.1 (СКО 4.1 %)**
2	86.1	4.44	
3	88.0	3.71	

Заключение

В данном исследовании был разработан композитный материал на основе углеродных нанотрубок и репеллента ДЭТА, обладающий низким удельным сопротивлением порядка 0.5 Ом*м, что в свою очередь обеспечивает эффективный нагрев субстанции при подведении невысокого напряжения (до 3В). За счет диффузии ДЭТА с поверхности материала, были определены зависимости подаваемого напряжения от концентрации репеллента в воздухе, которые показали, что разработанным композитным материалом можно управлять, тем самым обеспечивая эффективность применения активнодействующего вещества.

Также было изучено репеллентное действие материала в отношение кровососущих комаров вида *Ae. Aegypti*. По результатам проведенных энтомологических исследований было показано, что коэффициент репеллентного действия составляет свыше 87%, обеспечивая высокое защитное действия от нападений комаров. В дальнейшем планируются полевые испытания разработанного материала в виде портативного устройства в отношение летучих кровососущих насекомых (гнуса).

Однако уже по полученным результатам можно сделать вывод, что разработанный композитный материал обеспечивает высокий уровень репеллентной защиты от нападений кровососущих насекомых и за счет механизма контролируемого высвобождения репеллента способен снизить уровень выбросов токсических веществ в окружающую среду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cheng G. et al. Mosquito defense strategies against viral infection //Trends in parasitology. – 2016. – Т. 32. – №. 3. – С. 177-186;
2. World Health Organization. Climate change and health. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/climate-change-and-health. (дата обращения 01/02/24);
3. Tavares M. et al. Trends in insect repellent formulations: A review //International journal of pharmaceutics. 2018. V. 539. №. 1-2. P. 190-209;
4. Nogueira Barradas T. et al. Polymer-based drug delivery systems applied to insects repellents devices: a review //Current drug delivery. 2016. V. 13. №. 2. P. 221-235;
5. Cuervo-Parra J. A., Cortés T. R., Ramirez-Lepe M. Mosquito-borne diseases, pesticides used for mosquito control, and development of resistance to insecticides //Insecticides resistance. Rijeka: InTechOpen. – 2016. – С. 111-34;
6. Петровский Б. В. Большая медицинская энциклопедия //М. Советская Энциклопедия. – 1985. – Т. 17. – С. 446,472;
7. Du F. et al. 3D-Printing of the polymer/insect-repellent system poly (L-lactic acid)/ethyl butylacetylaminopropionate (PLLA/IR3535) //International Journal of Pharmaceutics. 2022. V. 624. P. 122023;
8. Dong Y. et al. Enzyme-responsive controlled-release materials for food preservation and crop protection-A review //International Journal of Biological Macromolecules. – 2023. – С. 128051;
9. Azeem B. et al. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer //Journal of controlled release. – 2014. – Т. 181. – С. 11-21.

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА И СОВРЕМЕННЫЕ ХИРУРГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В УЛУЧШЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЭХИНОКОККОВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

А.В. Шабунин[1,2], А.А. Карпов[1,2*]

A.V. Shabunin [1,2], A.A. Karpov [1,2]

[1]Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы, 125284, Москва, Россия

[2]Кафедра хирургии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, Россия

*botkin.karpov@yandex.ru

Актуальность темы исследования

Эхинококкоз является одним из самых распространённых паразитарных заболеваний в Российской Федерации [1, 2]. На его долю приходится до 1,2% от всех биогельминтозов. Анализ данных литературы свидетельствует о росте заболеваемости эхинококкозом в Российской Федерации и мире за последние 25 лет более чем в три раза (с 0,1 в 1990 г до 0,35 на 100 тыс. населения в 2015 г) [3]. По-прежнему остается открытым вопрос не только о выборе варианта хирургического вмешательства, но и необходимости проведения, длительности и режимов дозирования противопаразитарной терапии [4, 5]. Усовершенствование же лечебно-диагностического алгоритма за счет персонификации диагностического и лечебного этапов, выбора оптимального в каждом конкретном случае варианта хирургического вмешательства у пациентов с эхинококковым поражением печени, позволит улучшить не только непосредственные и отдаленные результаты лечения, но и внести значительный вклад в общую эпидемиологическую безопасность, в связи с чем и предпринято проведение данного научного исследования.

Цель исследования

Разработать концепцию персонифицированного подхода к лечению больных эхинококкозом печени на основе фармакогенетического и клинико-инструментального моделирования.

Материа и методы

В исследование включены 264 пациента, находившихся в Боткинской больнице за период с 2007 по 2021 годы. Возраст больных составил 53,7 лет (18-85). Соотношение мужчин и женщин: 1:1, распределение пациентов возрасту было ближе к нормальному. У 180 (68,2%) пациентов эхинококковые кисты были случайной находкой и протекали бессимптомно.

Пациенты были разделены на две группы: с 2007 года по 2016 и с 2017 по 2021 годы и находились на лечении в отделении гепатопанкреатобилиарной хирургии ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ (2007-2016, 2017-2021) с инструментальной картиной эхинококкоза печени. В группу 1 было включено 147 пациентов. Когорта пациентов состояла из 92 (62,5%) женщин и 55 (37,4%) мужчин. Возраст больных от 20 до 90 лет (45 ± 3,4 года). У 106 (72,4%) пациентов эхинококковые кисты были случайной находкой и протекали бессимптомно. Достоверных различий по половому и возрастному критерию, а также по соотношению пациентов с различными стадиями по ВОЗ выявлено не было. Распределение больных на подгруппы в группе 1 было связано с примененным способом лечения паразитарных кист. Подгруппа 1.1. была представлена больными (23) которым проводилась консервативная терапия. Подгруппа 1.2. включила в себя пациентов (22), которым по ряду причин была выполнена открытая эхинококкэктомия. В подгруппу 1.3. вошли 44 больных, которым выполнено хирургическое лечение в объеме перицистэктомии. Подгруппа 1.4 объединила пациентов (58), которым проведены резекционнные вмешательства на печени (правосторонняя гемигепатэктомия в различных вариантах). Консервативная терапия, как основной вид лечения, была использована у 23 (15,6%) больных. Открытая эхинококкэктомия была выполнена 22 (15%) пациентам. Анатомическая резекция печени осуществлена в 51 (34,7%) случаях. Перицистэктомия выполнена у 44 (29,9%) пациентов. Пункционно-дренирующий способ был применен у 7 (4,8%) пациентов при лечении инфицированных кист (в последующим оперированы тем или иным способом и вошли в соответствующие группы). В группу 2 было включено 117 пациентов, из которых 70 (59,9%) женщин и 47 (40,1%) мужчин. Возраст больных от 18 до 87 лет (53 ± 2,8 года). У 91 (77,8%) пациентов эхинококковые кисты были случайной находкой и протекали бессимптомно. Достоверных различий по половому и возрастному критерию и по соотношению пациентов с различными стадиями по ВОЗ выявлено не было. Аналогично распределению пациентов первой группы, во второй преобладали больные трудоспособного возраста. Пациенты исследуемых групп были сравнимы по основным характеристикам, что позволило нам в последующем экстраполировать данные, полученные при создании технологии моделирования у первой группы пациентов, на вторую. Общие послеоперационные осложнения оценивались по классификациям Clavien-Dindo, специфические- по ISGLS (International Study Group of Liver Surgery).

Результаты

Фармакогенетическое обоснование персонифицированного подхода к проведению противопаразитарной терапиу больнх эхинококкозом печени

В исследовании проведен статистический анализ результатов генотипирования венозной крови полиморфного и «дикого» вариантов CYP2J2 rs 890293, CYP3A4*22, CYP3A5*3 у 50 пациентов данной части исследования. На основании изучения полиморфного и «дикого» вариантов CYP2J2 rs 890293 (CC и CA) методом генотипирования венозной крови выявлено, что в исследовании преобладал генотип CC, вариант CA же был выявлен лишь у 18% пациентов, при этом при анализе результатов клинического наблюдения у всех их них (9/50) был выявлен значимо выраженный острый лекарственный гепатит, обусловивший отказ от проведения дальнейшей терапии. При дальнейшем изучении полиморфного и «дикого» вариантов CYP3A4*22 (CC и CT) выявлено, что в нашей выборке преобладал генотип CC, вариант CT же был выявлен лишь у 10% пациентов, при этом при анализе результатов клинического наблюдения у 21/45 пациентов с CC был выявлен значимо выраженный острый лекарственный гепатит (46,7%), обусловивший отказ от проведения дальнейшей терапии у 19 пациентов (42,2%). Следующей частью нашей работы была оценка полиморфизма CYP3A5*3 A6986G (GG, GA, AA). Развитие токсического лекарственного гепатита и отказ от проведения терапии альбендазолом у больных ассоциировался с вариантом CYP3A5*3 с генотипом GA (100%, p <0,001). При анализе влияния генетического полиморфмизма цитохромов P450 на частоту и тяжесть лекарственно индуцированного гепатита нами были проанализированы все генотипические варианты пациентов в исследовании. При этом вариант, сочетающий в себе CYP2J2 rs 890293 (CC), CYP3A4*22 (CC) и CYP3A5*3A6986G (GG) встретился у 39 (78%) пациентов (p <0, 001). У 6 (12%) больных по результатам обследования были получены данные о наличии CYP2J2 rs 890293 (CA), CYP3A4*22 (CC) и CYP3A5*3A6986G (AA) (p >0,05). Намного реже в нашей работе встречались комбинации CYP2J2 rs 890293 (CA), CYP3A4*22 (CT) и CYP3A5*3A6986G (GA) – 3 (6%) и другие (p >0,05). Частота развития тяжелых форм лекарственно индуцированного гепатита имела корреляционную связь с вариантом CYP2J2 rs 890293 (CA), CYP3A4*22 (CC) и CYP3A5*3A6986G (AA), что требовало значимой редукции дозы бензимидазолов (p <0,001). Таким образом, на основании изучения полиморфного и «дикого» вариантов CYP2J2 rs 890293 (CC и CA), CYP3A4*22 (CC и CT) и полиморфизма CYP3A5*3A6986G (GG, GA, AA) методом генотипирования венозной крови выявлено, что острый токсический лекарственный гепатит ассоциируется в случае имеющегося у пациента варианта CYP2J2 rs 890293 CA, CYP3A4*22 с генотипом CC и CYP3A5*3 с генотипом GA.

Клинико-морфологическое обоснование возможности применения паренхим-сберегающих, расширенных, комбинированных резекционных и миниинвазивных способов лечения эхинококкоза печени у больных с первичным и рецидивным паразитарным процессом

Первым этапом смены концепции перехода на органосберегающие вмешательства стала попытка морфологического обоснования самой возможности проведения подобных вмешательств. С целью проверки гипотезы является ли капсула кисты надежным барьером от проникновения сколексов за ее пределы нами было исследовано 28 последовательно удаленных макропрепаратов, содержащих эхинококковые кисты, как в исходе резекции печени, так и после перицистэктомии. Исследованы 20 кист после выполнения тотальной перицистэктомии и 8 органокомплексов после правосторонней гемигепатэктомии.

Морфологическое обоснование возможности применения миниинвазивных паренхим-сберегающих способов хирургического лечения у больных эхинококкозом печени

С целью определения возможности применения миниинвазивных чрескожных методов лечения эхинококковых кист печени на первом этапе нашей работы проведено «ex vivo» исследование, заключавшееся в радиочастотной и сверхвысокочастотной аблации паразитарных кист после удаления макропрепарата из организма пациента и оценки как эффективности (деструкции оболочек паразита содержимого кисты), так и безопасности процедуры в плане сохранения целостности стенок кист, отсутствия обсеменения окружающих тканей. Процедура радиочастотной аблации выполнена пяти больным, методика сверхвысокочастотной аблации применена 10 больным. Размер паразитарных кист варьировал от 5 до 10 см. При микроскопическом исследовании было отмечено, что благодаря высоким температурам и энергиям при РЧА и СВЧ происходит полная коагуляция белков паразита и его хитиновой оболочки (93,3%, 14/15). При электронно-микроскопическом исследовании зародышевых элементов эхинококковых кист отмечали полное разрушение клеточных элементов выводковых капсул эхинококка, некроз, расслоение и разрушение герминативного слоя (рис. 1А, 1Б).

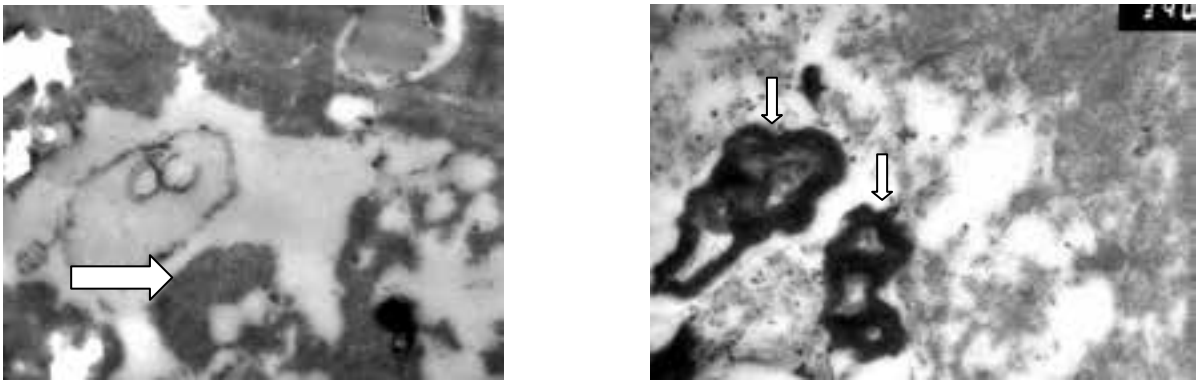


Рисунок 1. А) Деструкция элементов эхинококковой кисты (выводковая капсула). Уменьшение размеров и выраженное уплотнение цитоплазмы после СВЧ-аблации. Электронограмма Ув. 17000. Б) Онкосферы с нарушенной оболочкой. Электронограмма Ув. 17000

Следующим этапом исследования стало изучение препаратов эхинококковых кист после СВЧ аблации in vivo. Трем пациентам после ранее выполненной сверхвысокочастотной аблации кисты через 6 месяцев от момента проведения процедуры были выполнены перицистэктомии с прецизионным изучением содержимого и оболочек кисты. При оценке микропрепарата отмечается выраженная деструкция содержимого полости кисты, при этом хотелось бы отметить, что фиброзная оболочка не потеряла своей целостности, что еще раз подтверждает её крайнюю прочность и устойчивость к воздействию даже таких мощных физических агентов (рис. 2А, Б).

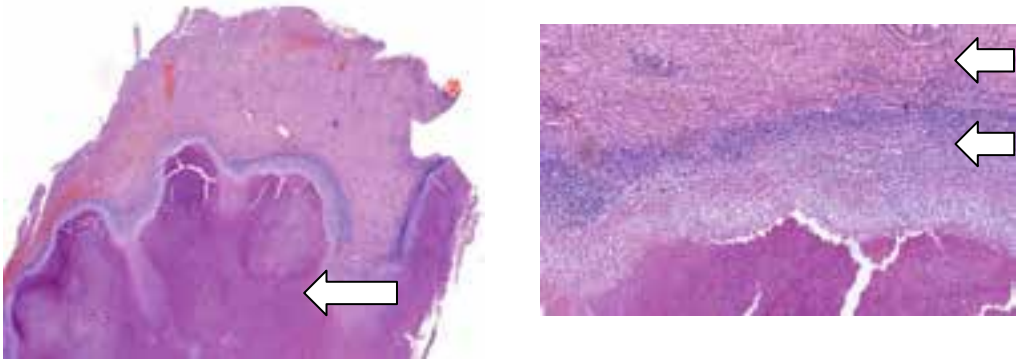


Рисунок 2. А) Некроз содержимого полости эхинококковой кисты после СВЧ аблации. Микропрепарат. Б) Сохранная фиброзная оболочка эхинококковой кисты после СВЧ-аблации. Грануляционный вал в прилежащей паренхиме печени. Микропрепарат

Таким образом, углубленное морфологическое как на свето-оптическом, так и на электронно-микроскопическом уровнях позволило подтвердить гипотезу о возможности применения органсберегающих способов хирургического лечения как в объеме перицистэктомии, так и применения аблационных методик, сделать новый шаг в развитии хирургических технологий лечения эхинококкоза печени- обосновать возможность применения способов физического воздействия на эхинококковые кисты.

Клинико-морфологическое обоснование комбинированного лечения для профилактики рецидивного эхинококкоза печени

В исследование включены 7 пациентов, перенесших подобные вмешательства, при этом после выполнения криоаблации проводился забор материала для детального морфологического изучения на ультраструктурном уровне. Исследованы 7 образцов участка стенки кист в области устья печеночных вен. При исследовании на электронно-лучевом уровне выявлены следующие изменения: в паренхиме печени, отмечалась выраженная мозаичность гепатоцитов (7/7), свидетельствующая о том, что криовоздействие оказывало влияние не только на остающиеся оболочки паразита, но и значимое деструктивное воздействие на прилежащую паренхиму печени (рис. 3А, 3Б).

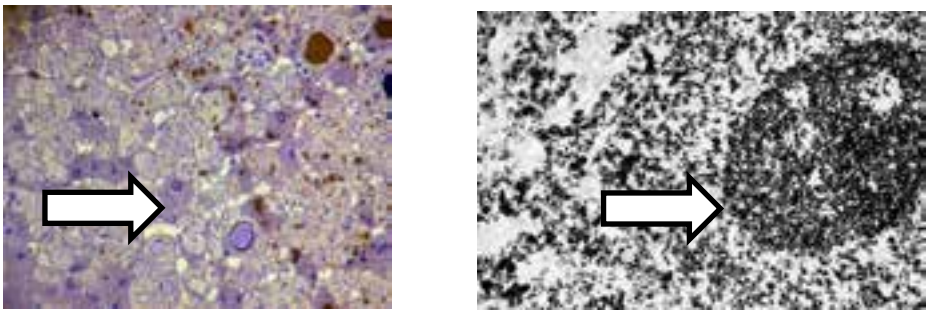


Рисунок 3. А) Ткань печени после криодеструкции зоны резекции печени. Выраженная мозаичность гепатоцитов. Электронная микроскопия. Ув.х1000**. Б)** Деструкция гепатоцита в зоне контакта криоаппликатора с печенью. Электронограмма. Ув. 14000

При электронно-микроскопическом исследовании зародышевых элементов эхинококковых кист отмечалось полное разрушение клеточных элементов выводковых капсул эхинококка (7/7), некроз (7/7), расслоение и разрушение герминативного слоя (7/7).

Все вышеперечисленные инструментальные и морфологические данные позволили нам сформулировать концепцию технологии моделирования и определить 4 основные модели эхинококкового поражения печени с определением тактических подходов к хирургическому лечению пациентов.

Профилактика развития острой пострезекционной печеночной недостаточности у больных эхинококкозом печени

Во второй группе больных с целью профилактики развития ОППН после оценки анатомического подолевого объема печени при выполнении МСКТ выполнялась однофотонная эмиссионная томография, совмещенная с многофазной компьютерной томографией. ОФЭКТ/КТ. По данным выполненной ОФЭКТ/КТ у 7 из 13 больных функционирующий объем паренхимы в остающейся части печени был <30%. Учитывая пограничное значение aFLR, относительно низкий функциональный резерв остающейся части печени (fFLR < 30%), этим больным проводили двухэтапное лечение с выполнением на первом этапе ЭПВВВ, затем контрольной ОФЭКТ/КТ с решением вопроса об объеме хирургического вмешательства. Технический успех составил 7/7 (100%). У 6/7 больных после выполнения ЭПВВВ при контрольной ОФЭКТ/КТ объем fFLR превышал 30%, что потребовало проведения повторной процедуры эмболизации лишь у одного пациента. Оперированы 7/7 пациентов: правосторонняя гемигепатэктомия выполнена в трех наблюдениях, расширенная правосторонняя гемигепатэктомия – в четырех. Эффективность ЭПВВВ оценивалась по объему прироста aFLR и fFLR. Средний показатель прироста fFLR составил 12,5%. Длительность хирургических вмешательств составила 212 (182-307) минуты

и 278,3 (185-421) минуты (с и без ЭПВВВ). Проанализированы результаты гемигепатэктомии в подгруппе 1.4. и в подгруппе 2.2.Предшествующая ЭПВВВ не приводила к увеличению объема интраоперационной кровопотери и составила: 415 (110–1050) мл и 234 (121–1212) мл соответственно. Необходимость в гемотрансфузии в подгруппе 1.4 отмечена у 31/58 (53,4%) пациентов, в 2.2- у 6/13 (46,2%). В подгруппе 1.4 средняя длительность послеоперационного койко-дня составила 17 (9–41) дней, в 2.2. - 13 (7–35). Количество послеоперационных осложнений по Clavien-Dindo степени III и выше в подгруппе 1.4. составило 26 (44,8%), при этом в подгруппе 2.2. – 6 (30,1%). Летальность в подгруппе 1.4. составила 8,6%, в подгруппе 2.2 – 7,7%. Полученные результаты были статистически достоверны, количество общехирургических осложнений составило 72,4% в первой группе, 46,2%- во второй ($p < 0,05$). При анализе полученных результатов отмечено, что эпизодов развития ОППН у пациентов в группе 1.4 выявлено 22 (37,9%) случая ОППН, при этом в пяти случаях данное осложнение было представлено категорией «С», в подгруппе 2.2. специфические осложнений в виде развития ОППН выявлены в двух (15,4%) случаях (категория А и В). Были получены достоверных различия по данному показателю ($p < 0,05$). В подгруппе 1.4. зафиксированы 8 геморрагических осложнений (класс «А» двое пациентов, класс «В»- 5, класс «С»- один). У пациентов из подгруппы 2.2. выявлены два случая послеоперационных геморрагических осложнений, относящихся к классу А и В. Достоверных различий по данному показателю получено не было (13,8% и 15,4% соответственно, $p > 0,05$). У пациентов подгруппы 1.4. отмечено 8 случаев билиарных осложнений, все из них купированы консервативно либо малоинвазивными методами лечения (чрескожное дренирование билом, ретроградное стентирование желчных протоков). В подгруппе 2.2. выявлен один случай желчного свища у пациента, перенесшего расширенную правостороннюю гемигепатэктомию (класс «В»). Осложнений класса С не было. В исследуемых группах были получены следующие показатели отдаленных результатов: 1,9% и 0% соответственно, достоверных различий получено не было, $p=0,624$. Это обусловлено изначально радикальным характером резекционного варианта хирургического лечения.

Сравнительный анализ применения методов локального физического воздействия на эхинококковые кисты.

С целью оценки эффективности и безопасности методик локального физического воздействия для лечения пациентов с эхинококковыми кистами печени в работе был проведен сравнительный анализ вышеуказанных методов с известным вариантом хирургического лечения – PAIR (таб. 10).

При проведении сравнительного анализа результатов лечения пациентов подгруппы 2.3 не было выявлено статистических различий по длительности выполненных манипуляций, объему кровопотери, послеоперационному койко-дню. При оценке количества общих и специфических осложнений статистически значимые результаты были получены только при оценке осложнений категории C-D III и составили 6/12 после процедуры PAIR при их отсутствии в подгруппах 2.3.2. и 2.3.3 (p=0,015; p=0,0021 соответственно). Специфических осложнений по ISGLS в данных подгруппах выявлено не было. Количество рецидивов в подгруппе 2.3.1. составило 7/12 (58%), что значимо превышало показатели в подгруппах 2.3.2. и 2.3.3. (p=0,005; p=0,0005 соответственно). Таким образом, в данной части работы было продемонстрирована безопасность и эффективность методов локального физического воздействия для лечения пациентов с эхинококковым поражением печени.

Обсуждение

Основой перехода от классического подхода к лечению пациентов с эхинококковым поражением печени к современному стала возможность осуществления клинико-инструментально-морфологического моделирования течения эхинококкового процесса в печени и генетически обоснованным назначением противопаразитарной терапии, тем самым еще на предоперационном этапе позволяя определить не только характер паразитарного процесса, предполагаемый объем хирургического вмешательства, но и необходимость, длительность и дозировку бензимидазолов.

Оценивая общехирургические показатели в обеих группах, нами были выявлены следующие закономерности: предоперационное моделирование и персонифицированный подход к выбору варианта операции обусловили значимое улучшение непосредственных хирургических результатов лечения. Так, если в ретроспективной группе больных средняя длительность операций составляла 188, 234, 322 минут в зависимости от объема вмешательства, то в проспективной группе больных- 13, 14, 26, 118, 213, 265 минут. Был проведен сравнительный анализ между основными ретроспективной и проспективной группами, отмечено статистически значимое снижение времени хирургических вмешательств во второй группе (p <0,05). При анализе полученных результатов было отмечено достоверное снижение объема кровопотери, а значит и потребности в гемотрансфузии, использовании экстракорпоральных методов аутогемотрансфузии. При анализе длительности госпитализации пациентов исследования нами отмечено достоверное уменьшение сроков госпитализации (p <0,001). Так, если в первой группе больных средний послеоперационный день составлял 14-16 суток, то во второй группе исследования- от 5 до 7, лишь только небольшая часть пациентов после объемных резекционных вмешательств имели аналогичные

первой группе показатели. Общее количество выявленных осложнений в группе 1 - 29 (23,4%), во второй 12 (10,3%), что было достоверно выше (p <0,05). Процент осложнений CDII в подгруппе 1.2. составил 63,6%, что было достоверно выше, чем во всех остальных подгруппах исследования (p <0,001). Общее количество выявленных осложнений в группе 1 - 30 (24,2%), во второй- 8 (6,8%), что было достоверно выше (p <0,05). Осложнения CDIII в подгруппе 1.2. составил 63,6%, что было достоверно выше, чем во всех остальных подгруппах исследования (p <0,001), высокий процент осложнений отмечался в подгруппах 1.4. (29,3%), 2.2. (30,8%,), 2.3.1.- 50%. Общее количество выявленных осложнений в группе 1 - 41 (33,1%), во второй- 8 (14,5%), что было достоверно выше (p <0,05). Количество осложнения CDIV в подгруппе 1.2. было наибольшим и составило 9%, что несколько превышало показатели других групп, однако достоверных различий между группами исследования нами получено не было. Общее количество выявленных осложнений в группе 1 - 8 (6,5%), во второй- 1 (0,85%), достоверных различий получено не было (p >0,05). Количество осложнения CDV в подгруппе 1.4. было наибольшим и составило 8,6%, что несколько превышало показатели других групп, однако достоверных различий между группами исследования нами получено не было. Общее количество выявленных осложнений в группе 1 - 6 (4,8%), во второй- 1 (0,85%), достоверных различий получено не было (p >0,05). В ходе анализа непосредственных результатов лечения пациентов обращает на себя внимание большее количество общих послеоперационных осложнений у больных первой группы (91,9%; 114/124). Увеличение количества перицистэктомий во второй подгруппе, характеризовалось снижением послеоперационных осложнений (54,5% против 14,3%). Во второй группе пациентов количество общих послеоперационных осложнений снизилось до 25,6% (30/117), p <0,001. Процент осложнений категории А по ISGLS в подгруппе 1.4. составил 24,1%, что было достоверно выше, чем в остальных подгруппах исследования (p <0,001). Общее количество выявленных осложнений А в группе 1 - 16 (12,9%), в группе 2- 3 (2,6%), что было достоверно выше (p <0,05). Процент осложнений категории В по ISGLS в подгруппе 1.4. составил 32,8%, что было достоверно выше, чем в остальных подгруппах исследования (p <0,001), кроме подгруппы 2.2 (23,1%). Общее количество выявленных осложнений категории «В» в группе 1 - 19 (15,3%), в группе 2- 3 (2,6%), что было достоверно выше (p <0,05). Анализ осложнений категории С по ISGLS позволил получить следующие результаты. Процент осложнений категории С по ISGLS в подгруппе 1.4. составил 8,6%, что было достоверно выше, чем в остальных подгруппах исследования (p <0,05). Общее количество выявленных специфических осложнений в группе 1 - 40 (32,3%), в группе 2- 6 (5,1%), что было достоверно выше (p <0,05). Особо хотелось бы отметить, что количество летальных исходов вследствие развития острой

пострезекционной печеночной недостаточности удалось у больных после резекций печени удалось снизить с 8,6% до 0%. Общее количество рецидивов составило в ретроспективной группе больных 20 (16,1%), в проспективной- 7 (5,98%).

Все эти полученные и научно обоснованные данные позволили нам создать клинико-инструментальный алгоритм для лечения больных с эхинококковым поражением печени.

Заключение

Разработка клинико-инструментальных критериев, генетической диагностики позволила применить персонифицированный подход к выбору способа хирургического лечения эхинококкоза печени. Полученные результаты научной работы позволяют рекомендовать их к внедрению в практику хирургических отделений в качестве основы для осуществления индивидуального подхода к лечению пациентов с эхинококковым поражением печени.

ЛИТЕРАТУРА

1.Wen H., Vuitton L., Tuxun T., Li J., Vuitton D.A., Zhang W., McManus D.P. Echinococcosis: Advances in the 21st Century. Clin Microbiol Rev. 2019 Feb 13;32(2):e00075-18. doi: 10.1128/CMR.00075-18. Print 2019 Mar 20.PMID: 3076047.

2.Гасанов, К. Г. Эхинококковое поражение печени у жителей Астраханской области: эпидемиология, клиника, диагностика / К. Г. Гасанов, Р. С. Аракельян, Х. М. Галимзянов [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2019. – № 4. – С. 39-43. – DOI 10.33092/0025-8326mp2019.4.39-43. – EDN UUYHLJ.

3.Ермакова, Л.А. Анализ заболеваемости человека лавральными гельминтозами (эхинококкоз, токсокароз, дирофиляриоз) в Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактики/ Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Нагорный С.А., Пшеничная Н.Ю., Болатчиев К.Х. 2017; 16 (1): 43-46. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2017-16-1-43-46.

4.Шабунин, А. В. Современные лапароскопические и роботические технологии в лечении эхинококкоза печени / А. В. Шабунин, В. В. Бедин, М. М. Тавобилов [и др.] // Московский хирургический журнал. – 2021. – № 1(75). – С. 34-38. – DOI 10.17238/issn2072-3180.2021.1.34-38.

5.Akhan O, Erdoğan E, Ciftci TT, Unal E, Karaağaoğlu E, Akinci D. Comparison of the Long-Term Results of Puncture, Aspiration, Injection and Re-aspiration (PAIR) and Catheterization Techniques for the Percutaneous Treatment of CE1 and CE3a Liver Hydatid Cysts: A Prospective Randomized Trial. Cardiovasc Intervent Radiol. 2020 Jul;43(7):1034-1040. doi: 10.1007/s00270-020-02477-7. Epub 2020 May 7. PMID: 32382859.

РОЛЬ IL-27 В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19

З.Р. Коробова, Н.А. Арсентьева, А.А. Тотолян

Федеральное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Введение

Пандемия COVID-19 охватила мир в 2020 году, и принесла с собой миллионы случаев заражения и смерти. Причинным фактором для развития инфекции служит РНК-вирус SARS-CoV-2, относящийся к роду Betacoronavirus [2]. Патогенез коронавирусной инфекции – это сложный многоступенчатый процесс, в основе которого лежит взаимодействие вируса с рецептором ангиотензинпревращающего фермента II (АПФ II), который повсеместно встречается в тканях организма [7]. При этом клинические проявления самой инфекции варьируют по тяжести течения, а также поражаемым органам: так, COVID-19 может сопровождаться поражением респираторных органов, гастроэнтерологическими расстройствами, аутоиммунным поражением суставов, поражением кожи с формированием экзантем и другими органоспецифичными и системными симптомами [3]. Однако важную роль в развитии инфекционного процесса играет реактивность со стороны иммунной системы. Причиной смерти при COVID-19 часто является так называемый цитокиновый шторм – гипервоспалительная реакция, сопровождающаяся обширным повреждением тканей [10].

Интерлейкин 27 (IL-27) – это один из цитокинов, участвующих в воспалительной реакции. Его роль крайне обширна: помимо провоспалительного действия через активацию клеток Т-хелперов I типа (Th1), этот цитокин также блокирует другие Т-хелперные звенья, активирует Т-регуляторные клетки (Treg), тем самым осуществляя противовоспалительные эффекты [1].

Целью данной работы стало изучить роль IL-27 в иммунопатогенезе COVID-19, охарактеризовав изменения концентраций этого цитокина и его ассоциации с разными субпопуляциями Т-лимфоцитов.

Материалы и методы

Первый этап исследования проводился в период с апреля по ноябрь 2020 года в коллаборации со специализированным инфекционным стационаром ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. В цельной крови больных COVID-19 в острой фазе (n=71), и здоровых доноров (n=46) методом проточной цитометрии определялись основные субпопуляции цитотоксических Т-

лимфоцитов на основании экспрессии маркеров CD3, CD8, CD45RA, CD62L, CXCR5, CXCR3, CCR6, CCR4 с использованием панели моноклональных антител от Beckman Coulter, США. В результате были выделены следующие популяции Т-цитотоксических лимфоцитов (табл. 1). Все пациенты, вошедшие в этот этап исследования, были инфицированы оригинальным штаммом SARS-CoV-2, условно получившим название «Уханьский».

Таблица 1. Субпопуляции цитотоксических CD8+ лимфоцитов на основании экспрессии маркеров CD45RA, CD62L, CCR6, CXCR3

Субпопуляция цитотоксических (CD8+) лимфоцитов	**Фенотип**
Наивные	CD45RA+CD62L+
Центральной памяти	CD45RA–CD62L+
Эффекторной памяти	CD45RA–CD62L–
Терминально дифференцированные (TEMRA)	CD45RA+CD62L-
Tc1	CCR6–CXCR3+
Tc2	CCR6–CXCR3–
Tc17	CCR6+CXCR3–

Методом мультиплексного анализа с использованием коммерческих тест-систем «Milliplex MAP» (Millipore, США), основанных на технологии Luminex xMAP (Luminex, США) с применением магнитных микросфер, в плазме крови определялись концентрации IL-27 (в пг/мл).

Второй этап исследования проводился в период с декабря 2020 по март 2022 года. Всем пациентам, поступавшим в специализированный инфекционный стационар ПСПбГМУ им. И.П. Павлова и СЗОНКЦ им. Соколова с острым COVID-19 (n=230), проводилось определение геновариантa вируса. Среди геновариантов, которыми были инфицированы пациенты, были представлены: вариант Альфа или B.1.1.7 (n=95), вариант Дельта или B.1.617.2 (n=78), и вариант Омикрон или B.1.1.529 (n=57). Методом мультиплексного анализа в плазме крови определялись концентрации IL-27.

При оценке нормальности распределения тестом Колгоморова-Смирнова данные показали далекое от нормального распределение ($p<0,2$), поэтому в работе применяли методы непараметрической статистики. В качестве описательной характеристики были использованы среднее (далее - Mean) и стандартное отклонение (±SD).

Сравнения между группами проводились с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса для множественных сравнений. При сравнениях трех и более групп использовался добавочный тест Данна (Dunn's test) и поправка Бонферрони для исключения эффекта множественных сравнений. Для определения корреляционных связей применялся метод Спирмена (R), при этом сила взаимосвязи определялась по шкале Чэддока.

Для обработки визуализации данных использовалось программное обеспечение Graphpad Prism 8.0 (Dotmatics, CA, США).

Результаты

При проведении корреляционного анализа между концентрациями IL-27 в плазме крови и основными субпопуляциями цитотоксических Т-лимфоцитов отрицательно коррелирует с уровнями CCR6+CD8+ Т-клеток эффекторной памяти (R= –0,400, p = 0,006) и TEMRA (R= –0,343, p = 0,021) у пациентов с острым COVID-19. Кроме того, уровни IL-27 в сыворотке также показывали отрицательную корреляцию с количеством клеток Tc17 среди клеток центральной памяти (R = –0,346, p = 0,020), эффекторной памяти (R = –0,356, p = 0,016) и терминально дифференцированных (R = –0,378, p = 0,011) CD8+ Т-клеток от пациентов с острым COVID-19, что не совпадало с этими показателями для здоровых доноров.

Результаты корреляционного анализа представлены на рисунке 1.

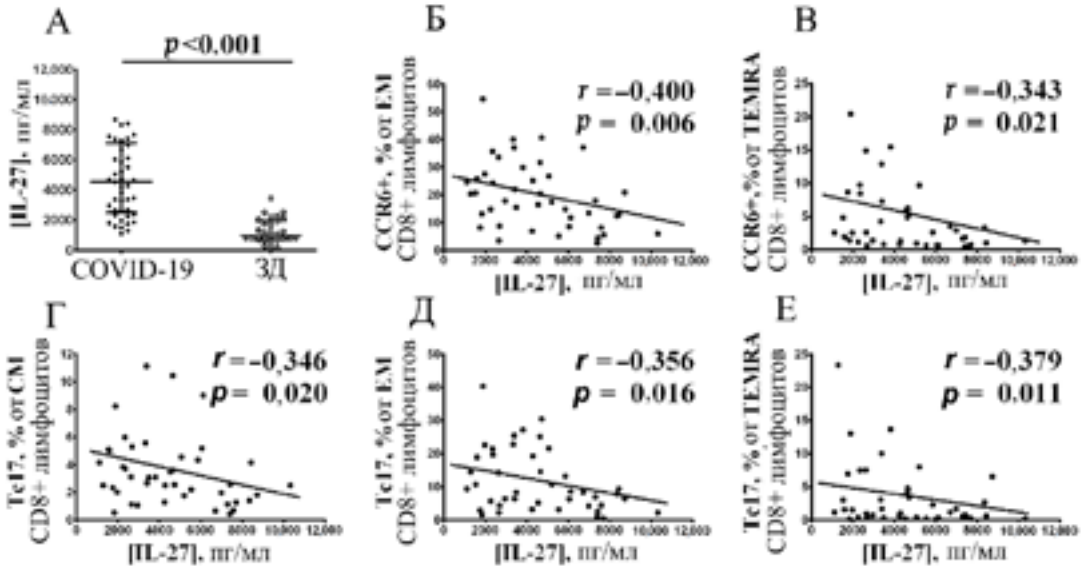


Рисунок 1. А – сравнение концентраций IL-27 между пациентами с острым COVID-19 и здоровыми донорами (ЗД). Б-Е – Корреляции между повышенным уровнем IL-27 в сыворотке и CCR6+CD8+ Т-клетками у пациентов с острым COVID-19.

Так же при сравнении концентраций IL-27 в плазме больных COVID-19 и здоровых доноров, нами было обнаружено, что концентрации этого цитокина при коронавирусной инфекции были повышены вне зависимости от геновариантa вируса. Результаты представлены на рисунке 2.

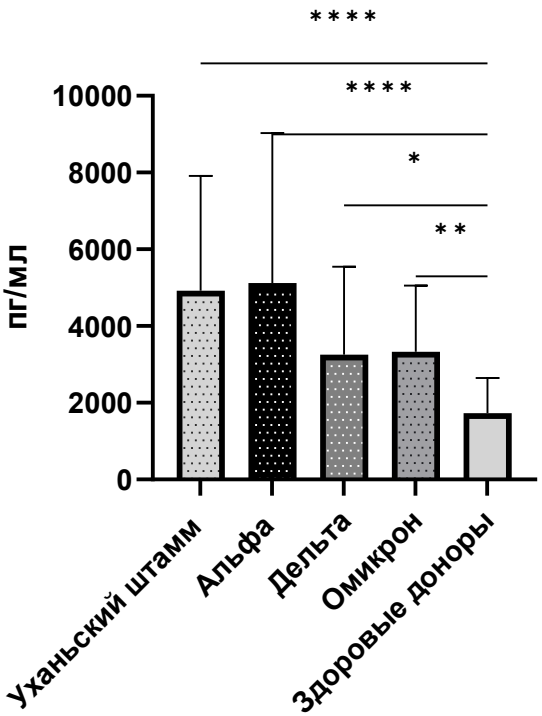


Рисунок 2. Концентрации IL-27 (в пг/мл) в плазме крови больных COVID-19, инфицированных оригинальным Уханьским штаммом (n=71), геновариантом Альфа или B.1.1.7 (n=95), геновариантом Дельта или B.1.617.2 (n=78), и геновариант Омикрон или B.1.1.529 (n=57). В качестве группы сравнения представлены здоровые доноры (n=46). Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения. Статистические различия отмечены звездочками (* - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$; **** - $p<0,0001$).

Обсуждение

IL-27 – это цитокин семейства IL6/12, состоящий из двух субъединиц IL-27p28 и EBI3. Его рецептор IL27R широко представлен на иммунных клетках лимфоидного ряда, через него осуществляется комплексные процессы сигналинга, которые обеспечивают широкие функции этого цитокина [6].

Как цитокин IL-27 амбивалентен: его роль в процессах воспаления одновременно индуцирующая и ингибирующая: так, он является медиатором Th1 воспаления и продукции интерферонов [9], что критически важно в контексте противовирусной защиты при COVID-19. Однако его функции шире, чем просто провоспалительные – так, IL-27 осуществляет активацию

Treg, а также блокировку сигналинга в сторону Th2, Th17 в пользу Th1-опосредованного иммунного ответа. Он так же вовлечен в гуморальный иммунный ответ, участвуя в переключении подклассов IgG, и во врожденных реакциях иммунитета, например, опосредованных NK клетками [8].

Отрицательная взаимосвязь IL-27 с уровнями Tc17 Т цитотоксических лимфоцитов примечательна тем, что субпопуляция Tc17 является цитокинпродуцирующей и, по факту, «дублирующей» Th17-опосредованный иммунный ответ по секретируемым ею цитокинам Так же эта субпопуляция способна к продукции интерферонов II типа, что является важным в контексте противовирусного иммунитета [4]. Таким образом, подчеркивается вовлеченность как IL-27 в иммунопатогенез COVID-19, так и этой популяции Т-цитотоксических лимфоцитов.

Концентрации IL-27 в плазме крови COVID-19 больных, инфицированных разными геновариантами SARS-CoV-2, отличались от концентраций этого цитокина у здоровых доноров, причем эта тенденция наблюдалась для всех четырех геновариантов. Это интересная находка как минимум потому, что по мере изменчивости SARS-CoV-2 цитокиновый профиль значительно изменился. Среди подобных IL-27 «константных» показателей воспаления при COVID-19 ранее мы выделили IL-6, IL-10 и IL-18 [5]. В целом, по мере изменчивости вируса наблюдалось условное «сужение» воспалительного каскада, однако IL-27 стабильно демонстрирует статистически достоверное повышение концентраций в острой фазе инфекции.

Заключение

На основании полученных данных и данных литературы можно предположить, что такой полифункциональный цитокин, как IL-27, является актуальным участником иммунопатогенеза COVID-19. Во-первых, на биологическом материале от пациентов с COVID-19 его концентрации в плазме претерпели специфические изменения, ассоциированные с острой фазой инфекции. Во-вторых, он показал отрицательные взаимосвязи с цитокинпродуцирующими субпопуляциями Т-цитотоксических лимфоцитов.

Роль IL-27 в норме и при патологии разнообразна: в частности, он является провоспалительным цитокином, активирующим Th1-опосредованный иммунный ответ. В то же время он обеспечивает и угнетение воспалительных реакций, как через блокировку Th2, Th17-опосредованного иммунитета, так и путем активации Treg клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carl, J. W., & Bai, X. F. (2008). IL27: its roles in the induction and inhibition of inflammation. International journal of clinical and experimental pathology, 1(2), 117–123
2. Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1282, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
3. Gavriatopoulou, M., Korompoki, E., Fotiou, D., Ntanasis-Stathopoulos, I., Psaltopoulou, T., Kastritis, E., Terpos, E., & Dimopoulos, M. A. (2020). Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. Clinical and experimental medicine, 20(4), 493–506. https://doi.org/10.1007/s10238-020-00648-x
4. Hamada, H., Garcia-Hernandez, M.deL., Reome, J. B., Misra, S. K., Strutt, T. M., McKinstry, K. K., Cooper, A. M., Swain, S. L., & Dutton, R. W. (2009). Tc17, a unique subset of CD8 T cells that can protect against lethal influenza challenge. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 182(6), 3469–3481. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0801814
5. Korobova, Z.R.; Arsentieva, N.A.; Liubimova, N.E.; Batsunov, O.K.; Dedkov, V.G.; Gladkikh, A.S.; Sharova, A.A.; Adish, Z.; Chernykh, E.I.; Kaschenko, V.A.; et al. Cytokine Profiling in Different SARS-CoV-2 Genetic Variants. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 14146. https://doi.org/10.3390/ijms232214146
6. Nathanael A CaveneyCaleb R GlassmanKevin M JudeNaotaka TsutsumiK Christopher Garcia (2022) Structure of the IL-27 quaternary receptor signaling complex eLife 11:e78463
7. Salamanna F, Maglio M, Landini MP, Fini M. Body Localization of ACE-2: On the Trail of the Keyhole of SARS-CoV-2. Front Med (Lausanne). 2020 Dec 3;7:594495. doi: 10.3389/fmed.2020.594495. PMID: 33344479; PMCID: PMC7744810
8. Yoshida H, Hunter CA. The immunobiology of interleukin-27. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:417-443. doi:10.1146/annurev-immunol-032414-112134
9. Yoshimura T, Takeda A, Hamano S, et al. Two-sided roles of IL-27: induction of Th1 differentiation on naive CD4+ T cells versus suppression of proinflammatory cytokine production including IL-23-induced IL-17 on activated CD4+ T cells partially through STAT3-dependent mechanism. J Immunol. 2006;177(8):5377-5385. doi:10.4049/jimmunol.177.8.5377
10. Потапнев Михаил Петрович Цитокиновый шторм: причины и последствия // Иммунология. 2021. №2.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО МОНИТОРИНГА ВАНКОМИЦИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ЛИКВОРЕ

Д.С. Коротков, Н.В. Курдюмова, О.А. Гаджиева, М.В. Сухорукова

Актуальность

Внутрибольничные (нозокомиальные) инфекции или инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, представляют собой одно из наиболее распространенных осложнений в результате нахождения пациентов в стационаре [1], приводя к увеличению длительности госпитализации, повышению уровня смертности и расходов на лечение [2, 3]. К факторам риска возникновения нозокомиальных инфекций у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) относят: тяжесть состояния, скомпрометированный иммунный статус, длительность механической вентиляции легких, частое использование инвазивных устройств и методик, широкое применение антибактериальных препаратов, которые могут способствовать развитию множественной лекарственной устойчивости у возбудителей [1, 4, 5].

Наиболее частыми инфекциями у пациентов в ОРИТ являются: вентилятор-ассоциированные пневмонии (ВАП), катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК), катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей (КАИМП), инфекции, связанные с областью хирургического вмешательства (ИОХВ) [6]. ВАП представляют наиболее распространенную форму внутрибольничных инфекции в отделениях интенсивной терапии и составляет 35% [2, 7], КАИМП по частоте встречаемости занимают второе место, на них приходится до 28% всех внутрибольничных инфекций [7], КАИК составляют от 10 до 20% [6, 7], а ИОХВ составляют 2-5% [6]. Пациенты нейрореанимации имеют свою специфику инфекционных осложнений, связанных с краниотомией, установкой внутричерепных устройств (датчика для измерения внутричерепного давления, наружного вентрикулярного дренажа) и раневой ликвореей [8, 9, 10]. По данным литературы частота встречаемости нозокомиальных менингитов составляет 0,75% среди внутрибольничных инфекций [11].

Системная эмпирическая терапия должна быть направлена на максимальный спектр возбудителей, выявляющихся по данным локального эпидемиологического мониторинга в той или иной клинике [12, 13]. Несмотря на, увеличение в последнее время частоты встречаемости грамотрицательных возбудителей, грамположительная флора

вносит весомый вклад в структуру заболеваемости нозокомиальными инфекциями [2]. В ОРИТ наиболее распространенным возбудителем из грам «+» флоры является золотистый стафилококк (20-30%), из грам «-» флоры синегнойная палочка (20-29%) и кишечная палочка (13-16%) [14]. Исходя из этого в структуру эмпирической антибактериальной терапии КАИК, ВАП и инфекций центральной нервной системы (ЦНС) рекомендуется включать препарат, активный в отношении MRSA, препаратом выбора, как правило, является ванкомицин [12, 13, 15].

Залогом адекватной антибактериальной терапии является достижение оптимальной концентрации антимикробного препарата в очаге воспаления. При этом количество рандомизированных клинических исследований дозирования и мониторинга концентрации ванкомицина крайне ограничено [16, 17, 18].

Рекомендации последних лет предлагают не использовать минимальные концентрации для коррекции дозировки ванкомицина, а вычислять на их основе параметр «отношение площади под кривой в течение 24 часов к минимальной ингибирующей концентрации» (AUC/MIC_{24}), как наилучшего фармакокинетического/фармакодинамического маркера эффективности ванкомицина, зависящего как от времени, так и от концентрации [18], поскольку исследования показали, что, традиционно рекомендуемые минимальные концентрации препарата либо не приводят к достижению целевых значений (400-600 мг*ч/л) AUC/MIC_{24}, либо превышают их. [16, 19, 20]. Тем самым мы имеем довольное узкое терапевтическое окно, вынуждающее проводить тонкую грань между недостаточной дозировкой ванкомицина, как следствие – неэффективное лечение и возникновение резистентности к антибиотикам, и чрезмерной дозировкой ванкомицина, которая опасна возникновением побочных эффектов. [1, 4, 21].

Применение ванкомицина у пациентов с нозокомиальным менингитом имеет свои особенности. Проникновение ванкомицина в спиномозговую жидкость связана с ограничениями, такими как: нарушение гематоэнцефалического барьера, гидрофильность и высокая молекулярная масса препарата, концентрация в плазме крови. [3, 11, 22, 23]. Считается, что при интракраниальных инфекциях происходит нарушение ГЭБ и проникновение ванкомицина в ликвор увеличивается [3, 11]. Однако работ подтверждающих количественную связь между концентрацией ванкомицина в плазме и ликворе ограничено. При этом достижение необходимой концентрации ванкомицина в плазме не означает достижение адекватной концентрации ванкомицина в ликворе. [22]. Считается, что кривая концентрации ванкомицина в ликворе не имеет впадин и пиков,

больше напоминая плато, с небольшим подъемом на третий час после прекращения введения препарата внутривенно. [18]. Использование терапевтического лекарственного мониторинга ванкомицина как в плазме крови, так и в ликворе у пациентов с инфекциями различной локализации может улучшить эффективность лечения за счет оптимизации дозы, минимизирования побочных эффектов и определения степени проникновения ванкомицина в спинномозговую жидкость.

Цель

Оптимизировать антибактериальную терапию ванкомицином на основании разработки и внедрения метода терапевтического лекарственного мониторинга у пациентов с нейрохирургической патологией, осложненных развитием инфекций различной локализации.

Задачи

1. Оценить эффективность антибактериальной терапии ванкомицином в лечении инфекционных осложнений у нейрохирургических пациентов на основании: воспалительных маркеров крови (лейкоциты, С-реактивный белок, прокальцитонин), ликвора (глюкоза, лактат, цитоз, прокальцитонин), динамики температурной реакции, микробиологических и инструментальных методов исследования у больных в группе с терапевтическим лекарственным мониторингом и без него.

2. Оценить сроки эрадикации возбудителя и длительность антибактериальной терапии у пациентов с нейрохирургической патологией при инфекциях различной локализации в группе больных с терапевтическим лекарственным мониторингом и без него.

3. Оценить возможность использования фармакодинамического параметра отношение величины площади под кривой «время - концентрация» к минимальной ингибирующей концентрации как оптимального лабораторного маркера эффективности терапии ванкомицином.

4. Провести сравнительный анализ частоты развития осложнений терапии ванкомицином, исходов и длительности пребывания в ОРИТ у пациентов с нейрохирургической патологией в группе с терапевтическим лекарственным мониторингом и без него.

Научная новизна

Впервые будет разработан персонализированный подход к терапии ванкомицином при лечении инфекционных осложнений различной локализации у пациентов с нейрохирургической патологией на основании использования терапевтического лекарственного мониторинга в плазме крови и ликворе.

Материалы и методы

Всего было исследовано 32 пациента (16 мужчин и 16 женщин, в возрасте от 21 до 81 лет, средний возраст составил 53,31 лет) после перенесенного нейрохирургического вмешательства с различными инфекционными осложнениями с использованием ТЛМ и без него: из них 25 пациентов с нозокомиальным менингитом (НМ), 6 пациентов с КАИК, 1 пациент с ВАП с использованием ТЛМ.

Всем пациентам ванкомицин вводился каждые 12 часов в виде продленной инфузии, при условии, что время введения 1000 мг препарата продолжалось не менее 1-го часа, 1500 мг не менее 1,5 часов, 2000 мг препарата не менее 2-х часов. Пациенты были разделены на две группы: в 1-ую группу вошли пациенты с выявленной инфекцией (менингит, катетер-ассоциированная инфекция кровотока), получающие в качестве системной антибактериальной терапии ванкомицин в дозе 1 грамм каждые 12 часов, которым не проводится ТЛМ; во 2-ую группу вошли пациенты пациенты с выявленной инфекцией (менингит, вентилятор-ассоциированная пневмония, катетер-ассоциированная инфекция кровотока), получающие в качестве системной антибактериальной терапии ванкомицин 1 грамм каждые 12 часов, которым проводится ТЛМ. А далее на основании данных лекарственного мониторинга проводилась коррекция дозы антибиотика.

Всем пациентам 2-ой группы группы первый анализ концентрации препарата в плазме крови был измерен в течение 48 часов после начала терапии ванкомицином. Пиковая плазменная концентрация ванкомицина в крови определена сразу после окончания введения 3-ей дозы препарата. Повторное определение пиковой плазменной концентрации ванкомицина в крови проводилась в течение 48 часов после коррекции дозы препарата (после 7 дозы). Минимальная плазменная концентрация будет определялась путем забора крови за 30-60 минут до введения 4-ой и 8-ой доз препарата соответственно. С первого дня системной терапии ванкомцином были измерены: количество лейкоцитов, количество тромбоцитов, С-реактивный белок, прокальцитонин, величина натрия и калия, значение креатинина. В последующем измерение плазменных концентраций ванкомицина проводились в зависимости от достижения необходимых

значений параметра отношение величины площади под кривой «время - концентрация» к минимальной ингибирующей концентрации (AUC/MIC_{24}) и динамики клинико-лабораторных показателей.

Вне зависимости от локализации инфекции, одновременно с пробами крови, проводился забор спинномозговой жидкости для определения пиковых и минимальных ликворных концентраций ванкомицина, начиная со 2-х суток терапии. Ликвор был получен в количестве не менее 2 мл путем люмбальной пункции/ из люмбального дренажа/ из наружного вентрикулярного дренажа. В случаях, когда анализ был взят из дренажа, 2 мл ликвора, оставшегося в дренаже, удалялось из дренажной трубки, и 3 мл «свежего» ликвора было взято на анализ. В ликворе измерены следующие параметры: глюкоза, лактат, цитоз, прокальцитонин и микробиологический анализ ликвора. В последующем измерение ликворных концентраций ванкомицина проводилось в зависимости от достижения необходимых значений параметра отношение величины площади под кривой «время - концентрация» к минимальной ингибирующей концентрации (AUC/MICserum) и (AUC/MICcsf) и динамики клинико-лабораторных показателей.

В исследование было включено 160 образцов крови и 141 образец ликвора.

Результаты

Из 16 пациентов с НМ, лечение которых сопровождалось использованием ТЛМ, у 16 пациентов были выявлены положительные культуры ликвора. Наиболее часто встречаемыми возбудителями являлись: *Methicillin-Resistant Staphylococcus Epidermidis (MRSE), Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA), Enterococcus Faecalis, Methicillin-Sensitive Staphylococcus Epidermidis (MSSE), Methicillin-Sensitive Staphylococcus Aureus (MSSA), Staphylococcus Hominis.* Использование ванкомицина в качестве антибактериальной терапии пациентов с чувствительными штаммами (MSSA и MSSE) было выбрано из-за документально подтвержденной аллергии на пенициллины. У 6 пациентов с КАИК возбудителями являлись: *Methicillin-Resistant Staphylococcus Epidermidis (MRSE), Enterococcus Faecalis, Methicillin-Sensitive Staphylococcus Epidermidis (MSSE), Methicillin-Sensitive Staphylococcus Aureus (MSSA), Staphylococcus Hominis, Staphylococcus Haemolyticus.* И у 1 пациента с ВАП возбудителем являлся *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)* (см. Таблицу 1).

Таблица 1.

Характеристика исследуемой группы пациентов

Пациент	Инфекция	ТЛМ	Пол	Возраст	Возбудитель	MIC, мг/л
1	НМ	Да	Ж	68	MSSE	1
2	НМ	Да	М	26	MRSE	1
3	НМ	Да	Ж	64	MRSE	1
4	НМ	Да	М	69	MRSA	1
5	НМ	Да	Ж	67	MRSE	0,5
6	НМ	Да	Ж	75	MRSE	≤ 0,5
7	НМ	Да	М	61	MRSE	1
8	НМ	Да	М	22	MRSE	2
9	НМ	Да	Ж	42	MRSA	1
10	НМ	Да	М	50	MRSE	1
11	НМ	Да	Ж	59	MRSE	1
12	НМ	Да	М	74	MRSE + E. Faecalis	1
13	НМ	Да	М	42	MRSE	1
14	НМ	Да	Ж	34	MRSE	1,5
15	НМ	Нет	Ж	81	MSSA	≤ 0,5
16	НМ	Нет	Ж	50	MRSA	1,5
17	НМ	Нет	Ж	55	MRSE	2
18	НМ	Нет	Ж	65	MRSE	1
19	НМ	Нет	М	61	MRSE	1
20	НМ	Нет	М	21	MRSE	1
21	НМ	Нет	Ж	49	MRSE	≤ 0,5
22	НМ	Нет	Ж	43	MRSE	≤ 0,5
23	НМ	Да	Ж	67	Enterococcus Faecalis	1
24	НМ	Да	М	33	MSSA	1
25	НМ	Да	М	36	Staphylococcus Hominis	≤ 0,5
26	ВАП	Да	М	64	MRSA	≤ 0,5
27	КАИК	Да	Ж	60	Staphylococcus Hominis	1
28	КАИК	Нет	Ж	56	MRSE	2
29	КАИК	Нет	М	53	MSSA	≤ 0,5
30	КАИК	Нет	М	62	MSSE	1
31	КАИК	Да	М	31	Staphylococcus Haemolyticus	1
32	КАИК	Да	М	66	Enterococcus Faecalis	1

В исследуемой группе пациентов не было выявлено достоверных различий по возрасту, полу, характеру нейрохирургической патологии и этиологии воспалительного процесса ($p > 0,05$).

Колебания концентраций в сыворотке крови были значительными: визуализировались четкие пиковые и минимальные значения плазменных концентраций. При сравнении группы с ТЛМ и с группой без него, учитывались значения концентраций в крови и ликворе, полученные при одинаковой суточной дозировке ванкомицина (2 грамма в сутки). Минимальные плазменные концентрации в группе с ТЛМ находились в диапазоне от 2,97 до 21,75 мг/л, среднее значение составило 9,27 мг/л. А в группе без ТЛМ минимальные плазменные концентрации находились в диапазоне от 3,58 до 15,55 мг/л, среднее значение составило 9,01 мг/л. Параметр «отношение площади под кривой в течение 24 часов к минимальной ингибирующей концентрации» (AUC/MIC_{24}) при $MIC \geq 1$ в группе с ТЛМ находился в диапазоне от 238 до 709 (медиана 452,5), а при $MIC < 1$ в диапазоне от 881 до 1018 (медиана 949,5). Параметр «отношение площади под кривой в течение 24 часов к минимальной ингибирующей концентрации» (AUC/MIC_{24}) при $MIC \geq 1$ в группе в группе без ТЛМ находился в диапазоне от 196 до 569 (медиана 354), а при $MIC < 1$ в диапазоне от 436 до 1094 (медиана 870,5).

По сравнению с сывороткой, кривая концентраций в ликворе не имела очевидных пиков и провалов. Минимальные ликворные концентрации находились в диапазоне от 0,2 до 4,97 мг/л, а максимальные концентрации были в диапазоне от 0,24 до 5,23 мг/л в группе без ТЛМ. В группе с ТЛМ минимальные ликворные концентрации находились в диапазоне от 0,2 до 4,32 мг/л, максимальные концентрации были в диапазоне от 0,2 до 5,09 мг/л. Нет достоверной разницы в значениях концентраций в вышеперечисленных группах ($p > 0,05$). Также при системной терапии ванкомицином в количестве 2-х грамм в сутки не выявлено достоверной разницы в значениях концентраций ванкомицина в спинномозговой жидкости между группами пациентов с интракраниальной инфекцией и без нее ($p > 0,05$).

У пациентов в группе ТЛМ, которым потребовалось увеличение суточной дозы ванкомицина до 3 или 4 граммов, концентрация ванкомицина в ликворе также достоверно увеличивалась ($p < 0,05$). Так при суточной дозе 3 грамма ванкомицина в сутки диапазон минимальных концентраций в ликворе составил от 0,46 до 8,27 мг/л, а максимальные концентрации находились в диапазоне от 0,64 до 9,74 мг/л. При использовании ванкомицина 4 грамма в сутки минимальные концентрации в ликворе находились в диапазоне от 3,21 до 8,71 мг/л, а максимальные от 3,4 до 8,29 мг/л.

За период лечения побочных реакций, таких как «синдром красного человека», тромбоцитопения и нарушение почечной функции не наблюдалось.

Выводы

Проведение терапевтического лекарственного мониторинга позволяет оптимизировать антибактериальную терапию у пациентов с нейрохирургической патологией, осложненных развитием инфекций различной локализации за счет внедрения параметра отношение величины площади под кривой «время-концентрация» в течение 24 часов к минимальной ингибирующей концентрации (AUC/MIC_{24}), отражающего достижение адекватной концентрации ванкомицина, и минимизировать частоту развития осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Geffers, C. Infections and Multidrug-resistant Organisms in Germany/ C. Geffers, P. Gastmeier // Deutsches Arzteblatt International. – 2011 – Vol. 108, №6. – P. 87–93.

2. Mainul, H. Health care-associated infections – an overview / H. Mainul, S. Massimo, J. McKimm, M. Abu Bakar // Infection and Drug Resistance. - 2018 – Vol. 11. – P. 2321–2333.

3. Vincent, J-L. Nosocomial infection and outcome/ J-L. Vincent // Nutrition. – 2002 – Vol. 18, №9. – P. 713.

4. Lujan, M. Healthcare-associated infections. A useful concept? / M. Lujan, M. Gallego, J. Rello // Current Opinion in Critical Care. – 2009 – Vol. 15, № 5 – P. 419–424.

5. Lambeau, S. Prevention of ventilator-associated pneumonia with oral antiseptics: a systematic review and meta-analysis / S. Lambeau, K. Van de Vyver, N. Brusselaers, D. Vogelaers, S. Blot // Lancet Infectious Diseases. – 2011 – Vol. 11 – P. 845-854.

6. Liu, J-Y. Nosocomial Infections: A History of Hospital-Acquired Infections / J-Y. Liu, J. K. Dickter // Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America – 2020 – Vol. 30, № 4 - P. 637–652.

7. Dasgupta, S. Nosocomial infections in the intensive care unit: Incidence, risk factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India / S. Dasgupta, S. Das, N. S. Chawan, A. Hazra // Indian Journal of Critical Care Medicine – 2015 – Vol. 19, № 1 – P. 14-20.

8. Beer, R. Infectious intracranial complications in the neuro-ICU patient population / R. Beer, B. Pfausler, E. Schmutzhard // Current Opinion in Critical Care – 2010 – Vol. 16 – P. 117–122.

9. Korinek, A-M. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy role of antibiotic prophylaxis / A-M. Korinek, T. Baugnon, J-L. Golmard, R. van Effenterre, P. Coriat, L. Puybasset // Neurosurgery – 2006 – Vol. 59, №1 – P. 126-133.

10. van de Beek, D. Nosocomial Bacterial Meningitis / D. van de Beek, J. Drake, A. R. Tunkel // New England Journal of Medicine – 2010 – Vol. 362, №2 – P. 146–154.

11. Valdoleiros, S. R. Nosocomial meningitis in intensive care: a 10-year retrospective study and literature review / S. R. Valdoleiros, C. Torrão, L. S. Freitas, D. Mano, C. Gonçalves, C. Teixeira // Acute and Critical Care – 2022 – Vol. 37, № 1 – P. 61-70.

12. Kalil, A. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society / A. Kalil // Clinical Infectious Diseases – 2016 – Vol. 63, №5 – P. 61-111.

13. Mermel, L. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America / L. Mermel // Clinical Infectious Diseases – 2009 – Vol. 49 – P. 1–45.

14. Vincent, J-L. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units / J-l. Vincent // JAMA – 2009 – Vol. 302, №21 – P. 2323-2329.

15. Tunkel, A. R. Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis / R.Hasbun, A. Bhimraj, K. Byers, S. L. Kaplan, W. M. Scheld, D. van de Beek, T. P. Bleck, H. J.L. Garton, J. R. Zunt // Clinical Infectious Diseases – 2017 – Vol. 64, №6 – P.34–65.

16. AbuSara, A. K. Vancomycin therapeutic monitoring by measured trough concentration versus Bayesian-derived area under the curve in critically ill patients with cancer / A. K. AbuSara, D. H. Abdelrahman, K. I. Habash, M. H. Al-Shaer, J. Le, L. H. Nazer // Pharmacology Research and Perspectives – 2022 – Vol. 10 – P. 1-7.

17. Pai, M. P. Innovative approaches to optimizing the delivery of vancomycin in individual patients / M. P. Pai, M. Neely, K. A. Rodvold, T. P. Lodise // Advanced Drug Delivery Reviews - 2014 – Vol. 77 – P. 50–57.

18. Rybak, M. J. Therapeutic monitoring of vancomycin for serious methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections: A revised consensus guideline and review by the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric

Infectious Diseases Society, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists / M. J. Rybak // American Society of Health-System Pharmacists – 2020 – Vol. 20 – P. 1-31.

19. Kullar, R. Impact of vancomycin exposure on outcomes in patients with methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia: support for consensus guidelines suggested targets / R. Kullar, S. L. Davis, D. P. Levine, M. J. Rybak // Clinical Infectious Diseases – 2011 – Vol. 52, №8 – P. 975-981.

20. Brown, J. Vancomycin AUC24/MIC ratio in patients with complicated bacteremia and infective endocarditis due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus and its association with attributable mortality during hospitalization / J. Brown, K. Brown, A. Forrest // Antimicrobial Agents and Chemotherapy – 2012 – Vol. 56, №2 – P.634-638.

21. Lau A. CW. Prevention of ventilator-associated pneumonia / A. CW. Lau // Hong Kong Medical Journal – 2015 –Vol. 21, № 1 - P. 61–68.

22. Fan, M-C. The CSF Vancomycin Concentration in Patients With Post-operative Intracranial Infection Can Be Predicted by the WBCs to Total Cells Ratio and the Serum Trough Concentration / M-C. Fan, J-L. Sun, J. Sun, J-W. Ma, N. Wang, W. Fang // Frontiers in Neurology – 2022 – Vol. 13 – P. 1-9.

23. Li, X. Population pharmacokinetics of vancomycin in postoperative neurosurgical patients and the application in dosing recommendation / X. Li., Y. Wu, S. Sun, Z. Zhao, Q. Wang // Journal of Pharmaceutical Science – 2016 – Vol. 105 – P. 1-7.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ КРОВИ И ТКАНЕЙ РЕЗЕЦИРОВАННЫХ КЛАПАНОВ ДЛЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

Е.О. Котова[1,2], А.С. Писарюк[1,2], Э.А. Домонова[3], Ж.Д. Кобалава[1,2]

[1]Кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. В.С. Моисеева, медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», г. Москва

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранении «Клиническая больница им. В.В. Виноградова», Москва, Россия

[3]Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Инфекционный эндокардит (ИЭ) – высоко летальное заболевание. Ключевое значение имеет ранняя и точная идентификация возбудителя. Однако базовые микробиологические исследования (МкБИ), направленные на поиск этиологического агента ИЭ, длительны и часто не информативны. Многообещающим и мало изученным является проведение ПЦР-исследования крови и тканевого материала резецированных клапанов.

Цель: изучить диагностическое и клиническое преимущество ПЦР-исследования на ранних этапах этиологической диагностики ИЭ.

Материалы и методы. Включено 154 пациента с достоверным/вероятным ИЭ по критериям Дюка (2012-2023 гг., г. Москва). Всем выполнено МкБИ и ПЦР-исследование образцов цельной венозной крови, из них у 62 оперированных дополнительно изучен тканевой материал резецированного клапана теми же методами. МкБИ проводилось по стандартному алгоритму. Определение ДНК широкого спектра возбудителей выполняли методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. Оценивались согласованность результатов этиологических методов диагностики, показатели диагностической информативности и терапевтический вклад.

Результаты. Медиана возраста составила 53,0 [36,0-68,0] года, мужчины – 70,1%. Левосторонний ИЭ диагностирован у 64,3%, поражение нативного клапана – у 85,1%. Этиологический агент установлен при исследовании цельной венозной крови двумя методами у 117/154 (76,0%) обследованных, из них у 25 (21,4%) пациентов возбудитель ИЭ впервые установлен при ПЦР-исследовании образцов цельной венозной крови, в том числе 3 случая

Bartonella sp. В 17,4% (16/92) случаев получены ложноположительные результаты МкБИ, обусловленные контаминацией.

Возбудитель ИЭ определен при исследовании двух видов биологического материала при использовании обоих методов у 53/62 (85,5%) обследованных, из них у 14,5% (n=9) этиологический агент установлен впервые при ПЦР-исследовании тканевого материала. В 28,3% (13/46) случаев получены ложноположительные результаты МкБИ образцов цельной венозной крови/тканевого материала клапана, обусловленные контаминацией.

Суммарный диагностический вклад ПЦР-исследования составил 30,5%, приведший к деэскалации антибактериальной терапии. Наилучшие параметры диагностических характеристик (чувствительность, специфичность, предсказательная ценность положительного и отрицательного результата) отмечены для ПЦР-исследования тканевого материала клапана (92,0%; 90,0%, 98,0%, 60,0%), сопоставимо высокие для МкБИ и ПЦР-исследования цельной венозной крови (79,0%, 86,0%, 92,0%, 67,0% и 67,0%, 93,0%, 96,0%, 51,0%), и неудовлетворительные для МкБИ тканевого материала клапана (54,0%, 73,0%, 83,0%, 40,0%).

Вывод. ПЦР-исследование высоко информативно для этиологической диагностики и выбора антибактериальной терапии ИЭ, является методом-выбора для оперированных пациентов (тканевой материал клапана) и пациентов с неустановленным возбудителем (цельная венозная кровь/ тканевой материал клапана), методом-контроля для всех (оба изучаемых вида биологического материала).

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ДЕТЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ПРИМЕРЕ ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ В ОБЛАСТНУЮ ДЕТСКУЮ БОЛЬНИЦУ

Л.И. Краснова, Л.А. Мусатова, Д.С. Хаярова, В.С. Бурлаков

Введение. Пандемия COVID-19 значительно изменила эпидемиологическую ситуацию в мире [1]. Так, заболеваемость детей внебольничной пневмонией продолжает оставаться одной из серьезных проблем здравоохранения Российской Федерации. По данным ВОЗ уровень смертности детей до 1 года по причине заболевания внебольничной пневмонией в нашей стране в 2 – 4 раза выше, чем в других экономически развитых странах [2]. В этой связи особенности заболеваемости внебольничной пневмонией в период пандемии COVID-19 представляют особый интерес.

Цель работы: изучить заболеваемость детей, госпитализированных в областную детскую больницу по поводу внебольничной пневмонии в период пандемии коронавирусной инфекции 2020-2022гг.

Материалы и методы: проведено исследование клинических случаев заболеваний новой коронавирусной инфекцией и пневмонией другой этиологии среди пациентов детского возраста, госпитализированных в Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Пензенская областная детская клиническая больница им. Н.Ф. Филатова»» г. Пензы с помощью ретроспективного анализа 3681 случаев заболеваний в период с января 2020 по декабрь 2022 года.

Внебольничную пневмонию детям диагностировали, принимая во внимание клинические и рентгенологические признаки, рекомендованные клиническим протоколом[3]: наличие интоксикационного и респираторного синдромов; инфильтративных изменений в легочной ткани на обзорной рентгенограмме органов грудной клетки у детей. Коронавирусную инфекцию верифицировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) мазка, взятого со слизистой оболочки носоглотки[4].

Результаты. В соответствии с методическими рекомендациями «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» от 03.07.2020, при появлении у ребенка таких признаков вирусного заболевания, как повышение температуры тела выше 38,5 °С в день обращения или лихорадка выше 38,0° в течение 5 дней и больше, наличие хотя бы одного из признаков дыхательной недостаточности: тахипноэ (частота дыхания у детей в возрасте до 1 года - более 50, от 1 до 5 лет - более 40, старше 5 лет - более 30 в мин), одышка в покое или при

беспокойстве ребенка, участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания, втяжения уступчивых мест грудной клетки при дыхании, раздувание крыльев носа при дыхании, кряхтящее или стонущее дыхание, эпизоды апноэ, кивательные движения головы, синхронные со вдохом, дистанционные хрипы, невозможность сосать/пить вследствие дыхательных нарушений, акроцианоз или центральный цианоз, насыщение крови кислородом при пульсоксиметрии SpO2 < 95% показана госпитализация в инфекционное отделение стационара [5].

Госпитализация заболевших респираторными заболеваниями пациентов детского возраста производилась в Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Пензенская областная детская клиническая больница им. Н.Ф. Филатова».

Проведено исследование 3681 случая заболеваний госпитализированных детей в возрасте от 0 до 18 лет, перенесших коронавирусную инфекцию - 1433 случая (39%) и внебольничную пневмонию - 2248 случая (61%) за период 2020-2022 года (рис.1).

Рис.1. Заболеваемость внебольничной пневмонией изученных детей, госпитализированных в областную детскую больницу в 2020-2022гг.

Установлена динамика заболеваемости внебольничной пневмонией и SARS-COV-2-инфекцией у госпитализированных детей, по годам с января 2020 по декабрь 2022 года. Так, рассматривая заболеваемость внебольничной пневмонией обнаружили, что в 2020 году зарегистрировано 693 (31%) пациента детского возраста, в 2021 году – 948 пациентов(42%), в 2022 году – 607(27%) детей с внебольничной пневмонией (рис.2).

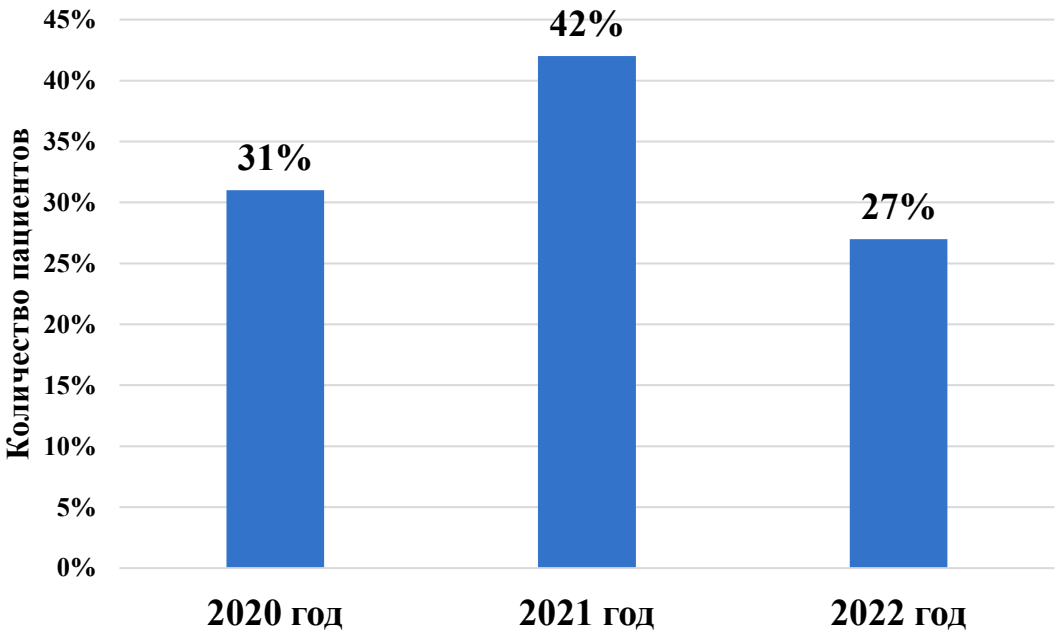


Рис.2. Динамика заболеваемости госпитализированных детей с внебольничной пневмонией в 2020-2022 гг.

Пронаблюдали динамику заболеваемости новой коронавирусной инфекцией госпитализированных детей. Так, из 1433 заболевших в 2020-2022гг детей на госпитализацию в 2020 году пришлось 171 пациент детского возраста, в 2021 г. – 642 ребенка, в 2022 году – 620 пациентов (рис.3).

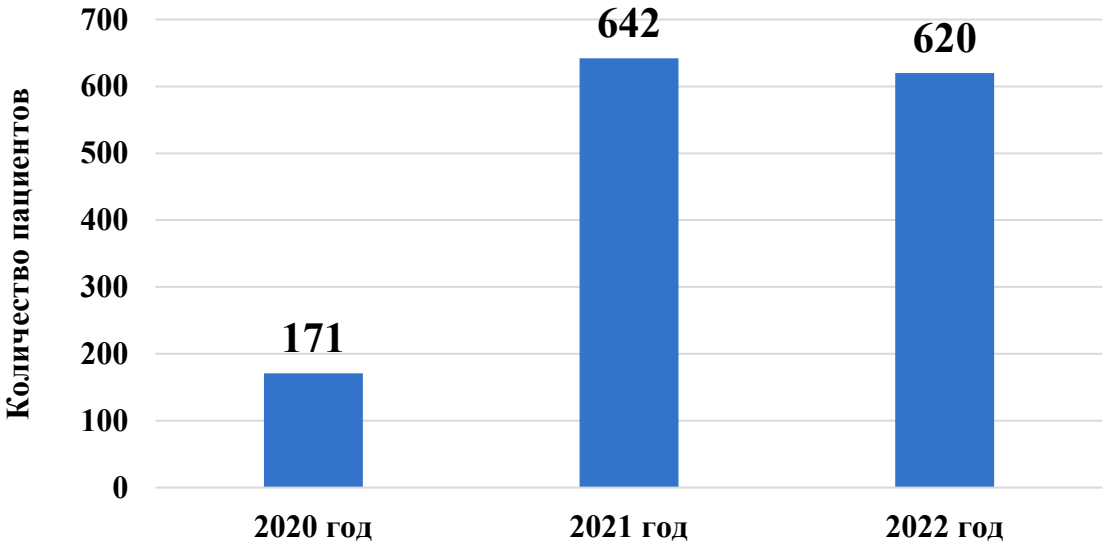


Рис.3. Зарегистрированные случаи заболевания COVID-19 у пациентов детского возраста

Заключение. Проанализировав статистические данные по госпитализации детей в городе Пенза за период с 2020 по 2022 год, было выявлено значительное преобладание уровня заболеваемости коронавирусной инфекцией в отличии от пневмонии.

Акцентируя внимание на распределение цифр заболеваемости пациентов детского возраста пневмонией в период с 2020 по 2022 год, можем наблюдать снижение заболеваемости. В случае с заболеваемостью детей Новой коронавирусной инфекцией, наблюдается значительный рост заболеваемости детей с 2020 по 2022 год.

При рассмотрении уровня заболеваемости в ГБУЗ «ПОДКБ им. Н.Ф. Филатова» в 2020 и 2021 году превалирует количество пациентов детского возраста с диагнозом пневмония, в 2022 году заболеваемость пневмонией и COVID-19 выходят на один уровень.

ЛИТЕРАТУРА

1. Временные методические рекомендации Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 14 (27.12.2021). М.: Министерство Здравоохранения РФ, 2021. 232 с.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. 340 с.
3. Клинические рекомендации Союза педиатров России. Внебольничная пневмония у детей– М.:ГЭОТАРД-Медиа, 2022
4. Система Выготского. Книга 1: Обучение и развитие детей и подростков [Текст] / С. Г. Касвинов. – Харьков: Райдер, 2013. – 460 с
5. Нестеренко З.В.,Прокопьева Н.Э.,Маталычина О.А.,Шестакова М.Д., Полунина А.В. Внебольничная пневмония у детей в период коронавирусной эпидемии. Медицина:теория и практика.Том 6,N4, 2021г.-с.12-20.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ СЛИЗИСТЫХ ОРОНАЗОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ

А.Р. Маржохова

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Входными воротами для SARS-CoV-2 служит слизистая оболочка верхних дыхательных путей. В случае заражения пациента сразу начинают беспокоить першение и дискомфорт в горле, выделения из носа различного характера и затруднение носового дыхания [1]

Прямое воздействие вируса приводит к десквамации клеток реснитчатого эпителия, нарушению полноценного функционирования мукоцилиарного транспорта и, как следствие, замедлению эвакуации слизи из околоносовых пазух, снижению барьерной функции, ослаблению иммунной активности слизистых оболочек.

Всплеск интереса к изучению мукозального иммунитета определяется несколькими факторами: способностью слизистых противостоять первичному размножению многих вирусов, в том числе SARS-Cov-2, наличием жалоб у пациентов после выписки из ковидных госпиталей со стороны ЛОР-органов [2].

По данным некоторых авторов, наличие хронических симптомов COVID-19, характерных для постковидного периода может затронуть до 30% всех инфицированных людей [3].

При постковидном синдроме на первый план выходят симптомы затяжного воспаления – сгущение слизи, затруднение отделяемого из носа. Зачастую обостряются хронические заболевания, такие как синусит, отит, тонзиллит. При вирусной инфекции, затрагивающей верхние дыхательные пути, происходит длительное поражение первой линии защиты организма, а именно угнетение мукоцилиарной функции слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. В результате возникают застойные явления [4].

Целью работы стало изучение содержания IgA и лизоцима в секретах слизистых ороназофарингеальной области у пациентов в постковидном периоде.

Материалы и методы. Были обследованы пациенты, имевшие кроме жалоб, характерных для постковидного периода, жалобы со стороны ЛОР-органов: нарушение обоняния (аносмия, гипоосмия, дизосмия), расстройство вкуса (дисгевзия, гипогевзия), сухость слизистых и чувство жжения ороназофарингеальной области, голосовые нарушения, аудиовестибулярные нарушения (тиннитус, шум в ушах), снижение слуха. Ни у кого из данной группы больных в

анамнезе не было хронических заболеваний ЛОР-органов, жалобы появились после острого периода ковида.

Пациентов обследовали в постковидном периоде от 4 до 12 недель от начала острого периода заболевания.

Концентрация sIgA была исследована в смешанной слюне пациентов и фарингеальном соскобе. Для определения sIgA использовали твердофазный иммуноферментный метод (Вектор-Бест, Россия). Лизоцим определяли в слюне ИФА-методом с использованием набора Human Lysozyme

Пациенты были разделены на следующие группы: 1 группа – пациенты Лор-кабинета амбулаторно-поликлинического отделения многопрофильной ГКБ №1, перенесшие ковид с симптомами постковида, с острым фарингитом и\или острым верхнечелюстным синуситом (35 человек, 19 женщин, 16 мужчин, в возрасте от 30-68 лет); 2 группа – пациенты отделения реабилитации ГКБ№1 с симптомами постковида, перенесшие ковид, без патологии ЛОР-органов (35 больных, 18 женщин, 17 мужчин в возрасте от 30-67 лет); 3 группа - пациенты Лор-кабинета амбулаторно-поликлинического отделения многопрофильной ГКБ №1, не имевшие в анамнезе ковида с острой ЛОР-патологией (35 человек, из них 16 женщин, 19 мужчин, в возрасте от 30 до 65).

Группа контроля - здоровые лица (20 человек, соответствующие по полу и возрасту предыдущим группам).

Статистическую обработку проводили с использованием программы Microsoft Excel, Statistica 10.0.

Результаты. Основным иммуноглобулином в гуморальной защите слизистых является sIgA. Предположительно назальные антитела играют ключевую роль в нейтрализации вирусов и обеспечивают в целом противомикробный иммунитет, влияя на микробиом слизистых.

Концентрация sIgA была исследована в смешанной слюне пациентов и фарингеальном соскобе. Смешанную слюну собирали утром, натощак, перед чисткой зубов, при пассивном слюноотделении.

Концентрация sIgA, как показатель гуморального мукозального иммунитета, был достоверно повышен по сравнению с нормой у пациентов 3 группы, не перенесших ковид, но с острыми воспалительными заболеваниями ЛОР-органов на момент обследования в слюне (115,0±17,0 мкг\л, $P<0,05$) и фарингеальном соскобе (16,0±3,6 мкг\л, $P<0,01$).

В группах, включавших пациентов с постковидным синдромом, не зависимо от наличия или отсутствия острой ЛОР-патологии, уровень sIgA в среднем и в слюне и в фарингеальном соскобе оказался достоверно ниже, чем у здоровых людей. Так, в 1 группе пациентов в слюне:

51,0±6,1 мкг\л, P<0,05, в фарингеальном соскобе 3,0±0,2 мкг\л, P <0,001. Во 2-й группе в слюне 55,0±4,9 мкг\л, P<0,05, а в фарингеальном соскобе 9,5±1,0 мкг\л, P<0,05.

Примечательно, что изученный показатель во всех исследованных средах был достоверно ниже показателей в группе больных, не имевших ковида в анамнезе.

Таблица 1. Концентрация sIgA в слюне и в фарингеальном соскобе пациентов в 3-х группах обследованных (мкг\л)

Груп-па обслед.	Колич человек	Материал для исследования	sIgA, мкг\л	P	P1
Здоро-вые	20	Слюна	75,0±8,0	-	-
		Фарингеальный локус	6,5±1,0	-	-
1.	35	Слюна	51,0±6,1	<0,05	<0,001
		Фарингеальный локус	3,0±0,2	<0,001	<0,001
2.	35	Слюна	55,0±4,9	<0,05	<0,001
		Фарингеальный локус	9,5±1,0	<0,05	>0,05
3.	35	Слюна	115,0±17,0	<0,05	-
		Фарингеальный локус	16,0±3,6	<0,01	-

Примечание: P-достоверность изменений по сравнению с группой здоровых; P1 – достоверность изменений по сравнению с группой без постковида

Для оценки местного врожденного иммунитета также оценивали содержание в слюне лизоцима у пациентов трех групп.

Лизоцим представляет собой мурамидазу, которая действует на пептидогликановую стенку грамположительных бактерий, вызывая гибель клеток. Он играет важную роль во врожденном иммунитете и присутствует в крови, внешней жидкости, а также в лизосомальных гранулах фагоцитов [5].

Лизоцим продуцируется эпителием и является основным компонентом гранул нейтрофилов, которые могут быть задействованы при остром воспалении слизистой оболочек. Лизоцим оказывает противовирусное действие, снижая абсорбцию вируса и его проникновение в клетки-мишени, связывает вирусные ДНК/РНК и подавляет репликацию вирусов, является молекулой врожденного иммунитета, оказывает противовирусный эффект в отношении различных вирусов [6].

Некоторые авторы отмечают, что лактоферрин, лизоцим, пероксидаза и т.д. в слюне могут действовать как общая иммунологическая защита от инфекции SARS-CoV-2 [7].

Имеются довольно разноречивые данные о содержании лизоцима в слюне больных ковидом в остром и постковидном периодах и у больных ЛОР- заболеваниями. Так, одни авторы не находят отличий содержания лизоцима в слюне больных и здоровых [5, 8], другие же авторы отмечают снижение содержания этого фермента у больных ковидом и при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов [9, 10].

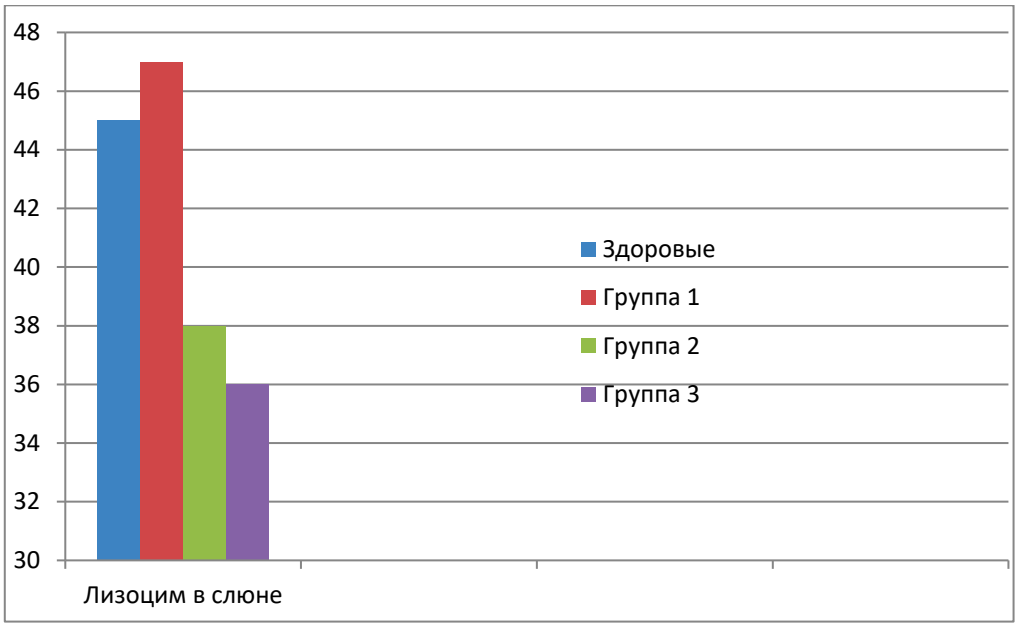


Рис 1. Содержание лизоцима в слюне пациентов обследованных групп

В результате проведенных нами исследований было обнаружено, что в группе больных без постковида с острыми заболеваниями ЛОР-органов изученный показатель не имел в среднем достоверных отличий от показателя у здоровых (47±3,3 нг/мл, P>0,05 против 45±2,5 у здоровых), у пациентов 1 и 2 групп обследованных с симптомами постковида полученные данные оказались в среднем достоверно ниже, чем у здоровых (у больных 1 группы 38±2,1, P<0,05; у больных 2 группы 36±1,6, P<0,05).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных, перенесших острую фазу ковида и сформировавших постковидный синдром в течение 4-12 недель от начала заболевания наблюдается недостаточность защитных факторов местного врождённого иммунитета и такие больные нуждаются в назначение иммуномодуляторов в постковидном периоде. Определение мукозального иммунитета имеет существенное значение для диагностики, прогноза и лечения постковидного синдрома.

Одной из возможных причин снижения мукоцилиарного клиренса, помимо прямого повреждающего действия вируса и воспаления, является длительная кислородная поддержка больных. Подобный эффект был описан ранее в ряде работ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Овчинников А.Ю., Мирошниченко Н.А., Бакотина А.В., Эдже М.А. Оценка клинической эффективности препарата Реглисам у пациентов с затяжным риносинуситом после перенесенной SARS-CoV-2-инфекции. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (28): 10–14. DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-28-10-14
2. Кириченко И.М., Попадюк В.И., Козлова Н.С. Синдром назальной обструкции после перенесенной новой коронавирусной инфекции, вызванной штаммом «омикрон» (клиническое наблюдение). РМЖ. 2022; 2: 46–49.
3. Patterson BK, Francisco EB, Yogendra R, Long E, Pise A, Rodrigues H, Hall E, Herrera M, Parikh P, Guevara-Coto J, Triche TJ, Scott P, Hekmati S, Maglinte D, Chang X, Mora-Rodríguez RA and Mora J (2022) Persistence of SARS CoV-2 S1 Protein in CD16+ Monocytes in Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC) up to 15 Months Post-Infection. Front. Immunol. 12:746021. doi: 10.3389/fimmu.2021.746021
4. Овчинников А.Ю., Мирошниченко Н.А., Бакотина А.В., Хон Е.М. Собственный опыт лечения пациентов с постковидным риносинуситом: эффективность и надежность. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (4): 54–58
5. Kmiliauskis M A, Palmeira P, Arslanian C, Pontes G N, Costa-Carvalho B T, Jacob C M, Carneiro-SampaioSalivary M M S. lysozyme levels in patients with primary immunodeficiencies// Allergol Immunopathol (Madr). 2005 Mar-Apr; 33(2):65-8. doi: 10.1157/13072915
6. Мухортых В.А. Рациональный подход к терапии при инфекционно-воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей в детском возрасте. РМЖ. Медицинское обозрение. 2021;5(11):755-761. DOI:10.32364/2587-6821-2021-5-11-755-761
7. Tsukinoki K. Detection of cross-reactive immunoglobulin a against the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 spike 1 subunit in saliva / K. Tsukinoki, T. Yamamoto, K. Handa et al. // PLoS ONE. — 2021. — Vol. 16. — Iss. 11. — URL: https: //journals. plos.org /plosone /article?id =10.1371/journal.pone.0249979 (accessed: 07.06.23). — DOI: 10.1371 /journal.pone.0249979.
8. Santos JGO, Migueis DP, Amaral JBD, Bachi ALL, Boggi AC, Thamboo A, Voegels RL, Pezato R. Impact of SARS-CoV-2 on saliva: TNF-α, IL-6, IL-10, lactoferrin, lysozyme, IgG, IgA, and IgM. J Oral Biosci. 2022 Mar;64(1):108-113. doi: 10.1016/j.job.2022.01.007. Epub 2022 Jan 25. PMID: 35091065; PMCID: PMC8788095;
9. Азнабаева Л. М. , Федорова Т. О. , Укубаева Д. Г. , Михайлова Е. А. , Киргизова С. Б. , Фомина М. В., Миронов А. Ю. Лизоцим слюны и антилизоцимная активность микроорганизмов – представителей биотопа миндалин больных хроническим тонзиллитом// Российский иммунологический журнал, Тематический выпуск "XIV конференция иммунологов Урала"2017, том 11 (20), №2 , с.238-240
10. Залялиева М.В., Рашидова Ф.М., Нурузова З.А., Абдукадырова М.У., Мирахмедова Н.Н. Показатели врождённого (лизоцим) и адаптивного (sIgA) иммунитета в слюне больных covid-19// Журнал теоретической и клинической медицины. 2022; 2: 90-93

РЕАКТИВАЦИЯ ВИРУСА VARICELLA-ZOSTER У ДЕТЕЙ ВО ВРЕМЯ ТЕЧЕНИЯ И ПОСЛЕ COVID-19

А.А. Мишкин, В.Ю. Кошман, А.А. Плоскирева

Аннотация. В статье производится анализ данных об аспектах реактивации и проявлении вируса Varicella-zoster (VZV) у детей после перенесенной новой коронавирусной инфекции (НКИ). Описаны механизмы возникновения и характер течения. Представлены клинические случаи сочетанного течения заболеваний, а также реактивации вируса Varicella-Zoster у детей. Произведен обзор научно-практических сведений, даны авторские рекомендации.

Ключевые слова: ветряная оспа, новая коронавирусная инфекция, патология, сыпь, гипертермия, реактивация

REACTIVATION OF VARICELLA-ZOSTER VIRUS IN CHILDREN AFTER COVID-19 DISEASE

Abstract. The article analyzes data on aspects of reactivation and manifestations of the Varicella-zoster virus (VZV) in children after after a new coronavirus infection (NCI). The mechanisms of occurrence and the nature of the course of the disease are described. Clinilal cases of combined disease, as well as reactivation of the Varicella-Zoster virus in children, are presented. A review of scientific and practical data was carried out, and author's recommendations were given.

Keywords: chickenpox, coronavirus, pathology, rash, hyperthermia, reactivation

Введение. VZV – это нейротропный ДНК-вирус, двуспирального строения, который имеет патогенность исключительно для человека. Первичное заражение приводит к заболеваемости ветряной оспой (далее ВО), после перенесенной «ветрянки» , вирус пожизненно латентно сохраняется в организме. Инфицирование происходит через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, конъюктиву. Реплицирование VZV отмечается в шейной и головной области, через неделю распространяясь по всем тканям организма [3, с. 115].

ВО – представляет собой высококонтагиозную вирусную патологию, при которой отмечаются проявления лихорадки, экзантемы в виде полиморфных высыпаний. При этом возможны осложнения в виде поражений респираторных путей (бронхит, пневмония), а также нервной системы (менингит, менингоэнцефалит). У детей течение болезни может иметь более тяжелый, осложненный характер. Новая коронавирусная инфекция (НКИ) – характеризуется обширным поражением легких, носоглотки, ломотой мышц, сухим кашлем, мультиорганным

поражением. Каждое из заболеваний передается воздушно-капельным путем, что делает риск их сочетания гораздо выше. Вследствие того, что имеется небольшое количество публикаций по данной тематике, это вызывает большие опасения у медицинских деятелей. Прогноз тяжести повторной заболеваемости после перенесенной НКИ имеет затруднительный характер [2, с. 104].

Целью исследования является произведение обзора сведений по данной проблеме, описание клинических случаев.

Актуальность. НКИ может иметь благоприятное течение у детей, но в случае реактивации других инфекционных заболеваний, в том числе ВО, может представлять особую опасность. Поэтому изучение основных аспектов проявления ВО у детей на фоне перенесенной НКИ представляет особую актуальность.

Материалы и методы исследования. Клинический опыт лечения пациентов поликлиники в московской области с диагнозом “ветряная оспа” в период пандемии Covid-19, также был произведен анализ научных данных, графическая интерпретация результатов, синтез мнений авторов.

Результаты исследования. По данным большинства исследований (октябрь 2020 года) было выявлено, что реактивация VZV может быть связана с воздействием возбудителя COVID-19. Европейский журнал неврологии впервые зафиксировал подобный случай у взрослого человека, который в детстве уже болел ВО. Заместитель главного врача по инфекционным болезням детской больницы им. З.А. Башляевой г. Москва упоминает о том, что не все дети могут с легкостью переносить симптомы данного заболевания. Поскольку ВО может вызывать тяжелые последствия и поражение органов респираторного тракта, центральной нервной системы. Поэтому медицинское сообщество должно со всей серьезностью относиться к минимизации рисков заражаемости ВО на фоне НКИ. Кроме того, VZV имеет высокую степень контагиозности, перемещаясь в воздухе на расстояния до двадцати пяти метров. Основным способом защиты от данной патологии была и остается иммунизация детей раннего возраста, а также взрослых пациентов по эпидемическим показаниям, что помогает сохранять невосприимчивость к вирусу при возможном контакте с инфекционным больным[4].

Кузьмина В.Н. в своем исследовании представляет данные клинического наблюдения за пациентом 5,5 лет. Основная симптоматика: гипертермия, клонико-тонические судороги, временная потеря сознания, апатия, вялость, боль в горле. Первично поставленный диагноз в амбулаторных условиях: острая респираторная инфекция с явлениями тонзиллита. После выяснения всех обстоятельств и помещения в стационар, ребенок был вялым, сохранялась фебрильная температура 38°С, отмечалось сонливое состояние, на коже были обнаружены пятнисто-папулезные высыпания не склонные к слиянию. На следующий день состояние ухудшилось, отмечалась головная боль,

рвота 1 раз, плаксивость, ригидность затылочных мышц. На коже были найдены везикулы в небольшом количестве, зев гиперемирован и отечен. Проведенные ПЦР тесты изначально не показали конкретного результата, при этом взятый мазок из везикул показал положительный результат на содержание ДНК VZV. Томография головного мозга выявила множественные поражения гемисфер и отек. По заключению врачей диагноз: Ветряная Оспа с менингоэнцефалитом, типичное течение (сыпь). Также ранее проведенный анализ крови выявил РНК SARS-Cov-2. В рамках лечения был назначен курс терапии иммуноглобулином, ацикловиром, преднизолоном. Данный курс дал положительные результаты, характеризующиеся нормализацией температуры тела, отсутствием новых высыпаний, отсутствием менингеальных симптомов через неделю [1, с. 66-67].

Пильгуй Э.И. с соавт. рассматривали случаи реактивации VZV на фоне развития НКИ у двух подростков-сиблингов. Оба мальчика не имели вакцинации из-за предубеждений матери и относятся к числу часто болеющих детей.

Первый клинический случай, рассмотренный авторами, касается пациента с расстройством аутистического спектра. В анамнезе жизни имеются упоминания о снижении массы тела, аллергиях. Первичные признаки патологии проявились с ринита, миалгиии, гипертермии, слабости, сухого кашля, тошноты и боли в горле. Был поставлен и иммунохроматографически подтвержден диагноз НКИ. По прошествии 5 дней к данным симптомам добавилось появление сыпи полиморфного характера (папулы и везикулы). Затем отмечалось развитие эрозий и корочек на всей поверхности тела. Был взят смыв со слизистых оболочек ротовой полости, что показало положительную реакцию на ДНК вирус ВО. Риноскопия показала гиперемию и отечность слизистых оболочек носа. На языке был отмечен белый налет, лимфатические узлы шейной группы были увеличены и безболезненны. Течение ВО не имело серьезного развития, сыпь спала к третьим суткам, полная нормализация температуры тела отметилась через 10 дней [2, с. 104-105].

Анализ крови и биохимия показывали отклонения, характерные для вирусной патологии (рисунок 1,2).

Таблица 1. **Данные клинического анализа крови пациента 1**
Table 1. Complete blood count of patient 1

День болезни / *Day of the disease*	Лейкоциты, ×10⁹/л / *White blood cells, ×10⁹/L*	Нейтрофилы, ×10⁹/л / *Neutrophils, ×10⁹/L*	Моноциты, ×10⁹/л / *Monocytes, ×10⁹/L*	Тромбоциты, ×10⁹/л / *Platelets, ×10⁹/L*	Лимфоциты, ×10⁹/л / *Lymphocytes, ×10⁹/L*	СОЭ, мм/ч / *ESR, mm/h*
2	2,94	1,06	0,62	162	1,03	7
5	2,1	0,48	0,32	152	1,2	9
9	3,32	1,35	0,33	196	1,51	20
13	5,01	1,75	0,56	255	2,5	5

СОЭ – скорость оседания эритроцитов.
ESR – erythrocyte sedimentation rate.

Рисунок 1. Результаты анализа крови пациента 1 по исследованию Пильгуй Э.И. с соавт. [2, с. 104]

Таблица 2. **Данные дополнительных и биохимических исследований крови пациента 1**
*Table 2. **Results of additional and biochemical tests of patient 1***

День болезни / *Day of the disease*	АЛТ, Ед/л (10–49) / *ALT, Units/L (10–49)*	АСТ, Ед/л (менее 34) / *AST, Units/L (<34)*	СРБ, мг/л (0–5) / *CRP, mg/L (0–5)*	Ферритин, нг/мл (28–365) / *Ferritin, ng/mL (28–365)*	D-димер, мг/л (норма до 0,55) / *D-dimer, mg/L (reference range: <0.55)*	Прокальцитонин, нг/мл (менее 0,1) / *Procalcitonin, ng/mL (<0.1)*
5	12	20	<1	35	37	–
9	11	21	0,4	36	–	0,03
13	26	32	0,2	29	–	0,02

АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспартатаминотрансфераза, СРБ – С-реактивный белок.
ALT – alanine aminotransferase, AST – aspartate aminotransferase, CRP – C-reactive protein.

Рисунок 2. Результаты биохимии пациента 1 по исследованию Пильгуй Э.И. с соавт. [2, с. 104]

Второй клинический случай также отмечает развитие у ребенка НКИ и реактивацию VZV. Также необходимо упомянуть, что оба ребенка являются братьями. С момента начала проявления НКИ и ВО у старшего брата с расстройством аутистического спектра, у данного пациента начались также высыпания, характерные для поражения VZV. Через двое суток больной стал жаловаться на затруднения дыхания, боль в горле, сухой кашель. Осмотр специалиста показал удовлетворительное состояние, температура держалась в пределах 38°С. Риноскопия также показала гиперемию и отечность слизистых оболочек носа. На языке был отмечен белый налет, подчелюстные лимфатические узлы были увеличены и безболезненны. Вся кожа постепенно покрывалась корочками и везикулами. Заднешейные лимфоузлы были увеличены до двух сантиметров, болезненные, рядом с ними отмечено наличие сливных ветряночных элементов. На четвертые сутки проявления всей симптоматики был сделан иммунохроматографический тест на НКИ, который дал положительный результат, причем больной уже почти переболел данной инфекцией, а на фоне нее развилась ВО. В рамках лечения НКИ и ВО был назначен комплекс в виде приема жаропонижающих, антигистаминных препаратов, противовирусной терапии (прием ацикловира – 4 раза в день по 600 мг). На четвертые сутки этиотропная терапия привела к снижению числа высыпаний, скудных выделений из носа, понижению температуры тела до субфебрильных показателей. Через 2 недели все признаки болезни угасли [2, с. 105].

Данные анализа крови и биохимии представлены на рисунке 3,4 (рисунок 3, 4).

Таблица 3. **Данные клинического анализа крови пациента 2**
*Table 3. **Complete blood count of patient 2***

День болезни / *Day of the disease*	Лейкоциты, $\times 10^9$/л / *White blood cells, $\times 10^9$/L*	Нейтрофилы, $\times 10^9$/л / *Neutrophils, $\times 10^9$/L*	Моноциты, $\times 10^9$/л / *Monocytes, $\times 10^9$/L*	Тромбоциты, $\times 10^9$/л / *Platelets, $\times 10^9$/L*	Лимфоциты, $\times 10^9$/л / *Lymphocytes, $\times 10^9$/L*	СОЭ, мм/ч / *ESR, mm/h*
4	2,04	0,64	0,3	112	1,06	20
6	6,29	2,13	0,44	133	3,64	19
11	4,69	1,32	0,41	393	2,85	20

Рисунок 3. Результаты анализа крови пациента 2 по исследованию Пильгуй Э.И. с соавт. [2, с. 105]

Таблица 4. **Данные дополнительных и биохимических исследований пациента 2**
*Table 4. **Results of additional and biochemical tests of patient 2***

День болезни / *Day of the disease*	АЛТ, Ед/л (10–49) / *ALT, Units/L (10–49)*	АСТ, Ед/л (менее 34) / *AST, Units/L (<34)*	СРБ, мг/л (0–5) / *CRP, mg/L (0–5)*	Ферритин, нг/мл (28–365) / *Ferritin, ng/mL (28–365)*	D-димер, мг/л (норма до 0,55) / *D-dimer, mg/L (reference range: <0.55)*	Прокальцитонин, нг/мл (менее 0,1) / *Procalcitonin, ng/mL (<0.1)*
4	18	35	2,59	70,2	1,56	0,09
6	24,7	35,8	0,67	69,2	1,66	0,06
11	–	–	0,04	47,4	0,56	0,01

Рисунок 4. Результаты биохимии пациента 2 по исследованию Пильгуй Э.И. с соавт. [2, с. 105]

Третий клинический случай описывает развитие ветряной оспы осложненной Stretococcus pyogenes у мальчика 8 лет, перенесшего Новую коронавирусную инфекцию не более 2-х месяцев назад. В апреле 2022 года, в поликлинику Московской области обратилась мама с жалобами на «пузырьковые высыпания» на теле у ребенка, также субфебрильную температуру, насморк. На 3-й день заболевания мама снова обратилась с жалобами на «другие высыпания на теле», «высыпания на языке», фебрильную температуру, увеличения шейных лимфатических узлов, кашель. После клинического осмотра пациента выставлен диагноз: Ветряная оспа, осложненная Stretococcus pyogenes. Подобный диагноз был выставлен после положительного стрептотеста. Ранее установленный диагноз Новой коронавирусной инфекции был подтвержден иммунохроматографическим тестом.

Клиническая картина сыпи на 3-й день заболевания данного пациент.

Рисунок 5. Везикулярная сыпь на теле, «манная крупа» на языке пациента 3

Заключение. Таким образом, в рамках проведенных исследований и собственного клинического опыта лечения детей с ветряной оспой в период пандемии COVID-19 было установлено, что НКИ у детей часто приводит к реактивации Varicella-Zoster Virus и появлению характерных высыпаний, а также развитию типичных осложнений ветряной оспы. Данные знания

помогут в ранней этиологической и клинической диагностике, и выборе дальнейшей тактики лечения. Было выявлено, что медицинское сообщество должно со всей серьезностью относиться к минимизации рисков заражаемости ВО на фоне НКИ. Кроме того, VZV имеет высокую степень контагиозности, перемещаясь в воздухе на расстояния до двадцати пяти метров. Основным способом защиты от данной патологии была и остается иммунизация населения, которая помогает сохранять невосприимчивость к вирусу во время вспышек заболевания, снижает частоту развития осложнений у инфицированных Varicella-Zoster, а также контактных лиц.

Поэтому для детей и взрослых особую важность представляет соблюдение всех мер профилактики сочетанного течения инфекций или последующей инкапсуляции ВО на фоне НКИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузьмина М. Н., Климовицкая Е. Г. и др. Клинический случай ветряной оспы, осложнённой менингоэнцефалитом и отёком головного мозга, в сочетании с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у ребёнка 5 лет. Детские инфекции. 2021; 20(2):64-67. doi.org/10.22627/2072-8107-2021-20-2-64-67
2. Особенности течения ветряной оспы и иммунизация детей с врожденным буллезным эпидермолизом от вируса Varicella zoster: результаты ретроспективного и проспективного исследования / Э. И. Пильгуй, Н. Н. Мурашкин, С. Г. Макарова [и др.] // Медицинский алфавит. – 2022. – № 27. – С. 45-49. – DOI 10.33667/2078-5631-2022-27-45-49. – EDN WSRIVO.
3. Поражения нервной системы, вызванные варицелла зостер вирусом: современное состояние проблемы / Н. В. Соловей, О. Т. Разницына, В. В. Щерба [и др.] // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2016. – Т. 6, № 1. – С. 115-129. – EDN VPFGBB.
4. Почему так важно предотвратить ветрянку во время продолжающейся пандемии нового коронавируса? // URL: https://www.vidal.ru/novosti/pochemu-tak-vazhno-predotvratit-vetryanku-9958 (дата обращения: 19.01.2024).
5. Lin, Chia-Shuen, Chang, Chung-Hsing. Disseminated Herpes Zoster Following Protein Subunit and mRNA COVID-19 Vaccination in Immunocompetent Patients: Report of Two Cases and Literature Review. Medicina. 2023. 59. 1542. 10.3390/medicina59091542.

ОЦЕНКА ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО И ПРОТИВОВИРУСНОГО ЭФФЕКТА КОМПЛЕКСОВ МИРНК ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НА МОДЕЛИ *IN VIVO*

Е.А. Пашков[1,2], Е.Б. Файзулоев[1], О.А. Свитич[1,2], В.В. Зверев[1,2]

[1]ФГБУН «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования России, 105064, г. Москва, Россия

[2]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия;

Аннотация

***Обоснование*:** Гриппозная инфекция - одна из наиболее актуальных проблем мирового здравоохранения. В связи с этим, в настоящее время остро стоят проблемы формирования вирусной резистентности к существующим лекарственным препаратам и иммуносупрессивного действия, индуцируемого вирусом гриппа. Перспективным решением представляется создание лекарственных препаратов, действие которых основано на ингибировании активности клеточных генов посредством РНК-интерференции.

***Цель исследования*:** оценка противогриппозного и иммуномодулирующего эффекта малых интерферирующих РНК, направленных к клеточным генам, на модели *in vivo*.

***Методы*:** В исследовании использован штамм вируса гриппа A/California/7/09 (H_1N_1), мыши BALB/c. Введение малых интерферирующих РНК и заражение животных выполняли интраназально. Оценку изменения цитокинового профиля и вирусной активности выполняли с помощью молекулярно-генетических и вирусологических методов.

***Результаты*:** По результатам проведенной оценки динамики экспрессии цитокинов, не было получено достоверных значений на системном уровне (в крови), за исключением IL-6, TNF-α и IL-10. На локальных уровнях были получены достоверные различия в экспрессии про- противовоспалительных цитокинов. Исходя из этого, наиболее активный иммуномодулирующий эффект используемые комплексы малых интерферирующих РНК показывают в верхних дыхательных путях и лёгких, в местах их непосредственного введения. По результатам проведенных исследований было продемонстрировано, что малые интерферирующие РНК Nup98.1 и Nup205.1 способны опосредованно эффективно снижать количество вирусной РНК у заражённых мышей.

***Заключение*:** В настоящее время наиболее остро встаёт вопрос создания средств быстрой и эффективной профилактики и терапии гриппозной инфекции. В проведённом исследовании представлены данные о том, что малые интерферирующие РНК, направленные к одному и более клеточным генам на модели *in vivo*, способны достоверно приводить к снижению вирусной репродукции, изменению цитокинового профиля, а также к повышению выживаемости лабораторных животных

Ключевые слова: РНК-интерференция, вирус гриппа, малые интерферирующие РНК, вирусная репродукция, цитокины.

EVALUATION OF THE IMMUNOMODULATORY EFFECT OF SIRNA COMPLEXES DURING INFLUENZA INFECTION USING IN VIVO MODELS

E.A. Pashkov[1,2], E.B. Faizuloev[2], O.A. Svitich[1,2], V.V. Zverev[1,2]

[1]I.I. Mechnikov Scientific and Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of science and high education, 105064 Russia

[2]Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia

Abstract

Background: Influenza infection is one of the most pressing global health problems. In this regard, the problems of the formation of viral resistance to existing drugs and the immunosuppressive effect induced by the influenza virus are currently acute. A promising solution seems to be the creation of drugs whose action is based on inhibition of the activity of cellular genes through RNA interference.

Aims: Evaluate the anti-influenza and immunomodulatory effect of small interfering RNAs directed to cellular genes in an in vivo model.

Materials and methods: The study used the influenza virus strain A/California/7/09 (H1N1), BALB/c mouse. Small interfering RNA was administered and animals were infected intranasally. Changes in the cytokine profile and viral activity were assessed using molecular genetic and virological methods.

***Results*:** Based on the results of the assessment of the dynamics of cytokine expression, no reliable values were obtained at the systemic level (in the blood), with the exception of IL-6, TNF-α and IL-10. At local levels, significant differences in the expression of pro-anti-inflammatory cytokines were obtained. Based on this, the most active immunomodulatory effect of the small interfering RNA complexes used is shown in the upper respiratory tract and lungs, at the sites of their direct administration. Based on the results of the studies, it was demonstrated that small interfering RNAs Nup98.1 and Nup205.1 are able to indirectly effectively reduce the amount of viral RNA in infected mice

Conclusions: Currently, the most pressing issue is creating means of rapid and effective prevention and treatment of influenza infection. The study presented data that small interfering RNAs directed to one or more cellular genes in an in vivo model can reliably lead to a decrease in viral reproduction, a change in the cytokine profile, as well as an increase in the survival rate of laboratory animals .

Keywords: RNA interference, influenza virus, small interfering RNA, viral reproduction, cytokines.

Обоснование

Респираторные вирусные инфекции на сегодняшний день представляют из себя одну из наиболее глобальных мировых проблем, несущих тяжелые социальные и экономические последствия. В 2021 году гриппозная инфекция унесла почти 650000 жизней. Осложнения гриппозной инфекции зачастую затрагивают не только респираторную, но и центральную нервную, мочеполовую, сердечно-сосудистую и иммунную системы, а также вызывают развитие бактериальных и грибковых осложнений [1]. Развитие осложнений и высокая смертность обуславливаются тем, что ввиду развития лекарственной резистентности вируса гриппа на сегодняшний день отсутствуют эффективные средства и профилактики данной инфекции. Высокая частота сопутствующих осложнений и смертности связано также и с тем, что вирусы гриппа имеют в своем составе белки, которые придают им иммуносупрессорные свойства. Одним из наиболее изученных белков среди подобных является NS-1. Основной функцией указанного белка является нарушение функционирования интерферон-опосредованных механизмов защиты организма, что приводит к снижению экспрессии ряда компонентов гуморального иммунитета [2].

В функционировании противогриппозного иммунитета ключевое ключевую роль играют цитокины IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 и TGF-1β, чья активность. IL-1β принимает участие в усилении экспрессии генов MCP-1 и MCP-3 и функциональном созревании тканевых макрофагов и дендритных клеток. Это приводит к усилению воспалительной реакции и активации эффективной системы презентации антигена [3]. Было показано, что TNF-α обладает противовирусной активностью в эпителиальных клетках легких [4]. Кроме того, TNF-α активирует макрофаги и стимулируют созревание дендритных клеток. Увеличение экспрессии TNF-α также коррелирует с продукцией IL-10, который является основным противовоспалительным цитокином, чьей функцией является регуляция и предотвращение избыточной воспалительной реакции [5]. IL-6 принимает участие в стимуляции синтеза белков острой фазы и выработке нейтрофилов в костном мозге [6]. TGF-1β является ключевым регулятором сигнального пути, способствующего образованию Treg-клеток [7].

Одной из перспективных технологий для преодоления данной проблемы является создание специфических антивирусных препаратов основана на механизме РНК-интерференции. РНК-интерференция – процесс нарушения экспресии целевого гена с помощью молекулы малой интерферирующей РНК (миРНК, siRNA) [8].

Исходя из вышесказанного, целью данного исследования является оценка изменения экспрессии цитокинов IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 и TGF-1β в лёгких, в верхних дыхательных путях (ВДП) и в крови в результате подавления активности клеточных генов Nup98 и Nup205,

чьи продукты играют важную роль в репродукции вируса гриппа на модели *in vivo,* а также оценка противовирусного эффекта самих комплексов миРНК.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Мышей линии BALB/C – самок с массой тела 17–20 г – получали из питомника «Столбовая» (Московская обл., Россия). Животные содержались в виварии на стандартном рационе со свободным доступом к брикетированному корму и воде. Содержание соответствовало правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник. Маркировка мышей производилась с помощью красителей.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES, July 23, 2010). Исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (протокол № 04-21 от 18.02.2021).

Культуры клеток

В работе использовались клетки почек кокер-спаниеля MDCK (Институт Пастера, Франция) и клетки мышиных фибробластов L929 (НИИ ВС им. И.И. Мечникова, Россия). Клетки MDCK выращивали в среде MEM (ПанЭко, Россия), содержащей 5% эмбриональной сыворотки коров (ЭСК) Gibco (Fisher Scientific, Новая Зеландия), 40 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия) и 300 мкг/мл L-глутамина (ПанЭко, Россия) при 37 °C в CO_2-инкубаторе. Клетки L929 выращивали в среде DMEM (ПанЭко, Россия), содержащей 5% ЭСК, 40 мкг/мл гентамицина и 300 мкг/мл L-глутамина при 37 °C в CO_2-инкубаторе.

Вирус

В работе использован вирус гриппа A/California/7/09 (H_1N_1), полученный из коллекции вирусов НИИ ВС им. И.И. Мечникова. Культивирование вируса проводилось на культуре клеток MDCK.

Методы определения экспрессии вРНК и мРНК цитокинов

вРНК выделяли из лёгочного гомогената мышей набором ExtractRNA (Evrogen, Россия). Для постановки реакции обратной транскрипции (ОТ) применяли набор реагентов ОТ-1 (Синтол, Россия). Для ПЦР-РВ использовали набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя EVA Green и референсного красителя ROX (Синтол, Россия). Рабочая концентрация праймеров составила 10 пмоль/мкл. Реакция ПЦР-РВ проводилась в амплификаторе ДТ-96 (ДНК-технология, Россия). Температурно-временной режим составил 95 °C 5 мин (1 цикл),

62 °C – 40 с, 95 °C – 15 с (40 циклов). Праймеры для определения экспрессии цитокинов (Синтол, Россия) представлены в исследованиях [9-13].

Оценка изменения экспрессии целевого гена проводилась с использованием критерия $2^{-\Delta\Delta CT}$. Проводился расчёт разницы трёх повторов пороговых циклов ПЦР (ΔCt) между исследуемыми генами отрицательного контроля и геном домашнего хозяйства GAPDH:

$$\Delta Ct = Ct\ (интересующий\ ген) - Ct\ (GAPDH).$$

Аналогичный расчёт ΔCt проводился для клеток, обработанных миРНК. Полученные данные усреднялись.

После определения ΔCt для всех групп исследования полученные с трёх повторов данные ΔCt усреднялись, а затем рассчитывалось значение ΔΔCt относительно среднего значения ΔCt для клеток, обработанных миРНК:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct\ (обработанный\ образец) - \Delta Ct\ (отрицательный\ контроль).$$

Для определения критерия $2^{-\Delta\Delta CT}$ необходимо 2 возвести в полученное значение ΔΔCt для каждого исследуемого гена. Далее данные $2^{-\Delta\Delta CT}$ будут представлены в процентах. Расчёт изменения экспрессии проводился относительно изменения экспрессии целевых генов (*FLT4*, *Nup98* и *Nup205*) в неинфицированной культуре клеток, трансфицированной миРНК L2, неспецифичной по отношению к указанным мышиным.

Титрование вируса по конечной точке цитопатического действия

Вирусный титр определялся по крайней точке визуального проявления цитопатического эффекта в культуре клеток MDCK. Клетки MDCK сеяли в 96-луночные планшеты с посевной концентрацией 1×10^4/см^2. Через двое суток питательная среда удалялась из лунок, вносили 10-кратные последовательные разведения вирусного материала в поддерживающей среде без трипсина и инкубировали на протяжении четырех суток в CO_2-инкубаторе при 37 °C. На четвертые сутки проводили визуальный учёт результатов титрования под микроскопом на наличие специфического цитопатического эффекта для вируса гриппа (изменение, деформация, открепление мёртвых клеток со дна лунки). Вирусный титр рассчитывался по M.A. Ramakrishnan [9] и выражался как логарифм тканевых цитопатогенных доз (lg $ТЦД_{50}$/мл).

Статистическая обработка данных

Статистическую значимость полученных результатов определяли с помощью критерия Манна–Уитни. Разница считалась достоверной при $p \leq 0{,}01$ и $p \leq 0{,}05$.

Результаты

Влияние миРНК на экспрессию цитокинов in vivo при гриппозной инфекции

При оценке изменения уровня экспрессии IL-1β в лёгких при интраназальном введении всех комплексов миРНК отмечалось его снижение на вторые сутки с момента трансфекции в 0,6, 1,7

и 4,5 раз (относительных единиц, ОЕ) на первые сутки. В смывах ВДП на первые сутки отмечалось повышение экспрессии IL-1β также при введении всех комплексов миРНК. В данном случае, при интраназальном введении Nup98.1, рост экспрессии IL-1β на первые сутки составил 1036 раз на первые сутки, для миРНК Nup205.1 – 112,6 раз, а для Nup98.1/Nup205.1 – рост экспрессии составил 557,5 раз. При этом, в крови не отмечалось достоверного изменения экспрессии IL-1β. При оценке экспрессии IL-6 были получены следующие результаты. В лёгких мышей не отмечалось достоверного роста экспрессии IL-6 после интраназального введения комплексов миРНК и инфицирования, однако наблюдалось снижение экспрессии указанного цитокина в 25 ОЕ в ВДП спустя 72 часа с момента интраназального введения миРНК и инфицирования при использовании миРНК Nup205.1 на первые сутки. При оценке экспрессии IL-6 в крови было установлено, что в тех группах, где мышей обрабатывали комплексами Nup98.1 и Nup205.1, наблюдалось снижение экспрессии указанного цитокина к третьим суткам на первые сутки в 45,2 и 63,1 ОЕ соответственно. При оценке экспрессии TNF-α было установлено, что уровень экспрессии TNF-α в лёгких снижался на вторые и третьи сутки. При оценке изменения экспрессии TNF-α в ВДП было показано, что уровень экспрессии указанного цитокина повышался на вторые сутки при использовании всех комплексов миРНК в 588, 159 и 200 ОЕ. При оценке изменения экспрессии TNF-α в крови достоверных различий не наблюдалось. При использовании миРНК Nup98.1 и Nup98.1/Nup205.1 наблюдалось достоверное увеличение экспрессии IL-10 в лёгких к третьим суткам в 52,9 и 183,1 ОЕ с момента их интраназального введения на первые сутки. При оценке экспрессии IL-10 в ВДП было установлено, что повышение экспрессии указанного цитокина отмечалось на третьи сутки при использовании миРНК Nup205.1 и составило 570 ОЕ. При оценке экспрессии IL-10 в крови мышей достоверного изменении экспрессии не наблюдалось. Далее было установлено, что экспрессия TGF-β1 снижалась на третьи сутки с момента трансфекции на 29,9, 53,2 и 63,1 ОЕ при введении всех комплексов миРНК к первым суткам. При этом противоположный результат наблюдался при оценке изменения экспрессии TGF-β1 в крови мышей. В данном случае наблюдался рост экспрессии среди групп мышей, обработанных миРНК Nup98.1 и Nup205.1 и составил 2 и 1,5 ОЕ. В случае со сводным комплексом Nup98.1/Nup205.1 отмечалось снижение экспрессии TGF-β1 в 0,9 ОЕ. Полученные данные представлены в таблице 1.

Противовирусный эффект комплексов миРНК

При оценке противовирусного эффекта комплексов миРНК было установлено, что использование всех миРНК приводило к снижению вирусной репродукции. Применение миРНК Nup98.1 приводило к снижению вирусной репродукции на третьи сутки на 2.3 lg $ТЦД_{50}$/мл. На 2.1 lg $ТЦД_{50}$/мл достоверно снижался вирусный титр, соответственно, при использовании миРНК Nup205.1. Полученные данные представлены на рисунке 1. При оценке

противовирусной активности сводного комплекса Nup98.1/Nup205.1 было установлено, что у мышей, обработанных данным комплексом вирусный титр был достоверно снижен на 1.4 lg $ТЦД_{50}$/мл. Полученные данные представлены на рисунке 2.

Обсуждение

По результатам проведенной оценки динамики экспрессии цитокинов, было установлено, что на локальных уровнях наблюдались достоверные различия в экспрессии про-противовоспалительных цитокинов. Исходя из этого, наиболее активный иммуномодулирующий эффект используемые комплексы миРНК показывают в ВДП и лёгких, в местах их непосредственного введения.

Особую актуальность в настоящее время имеет вопрос создания лекарственных средств для экстренной профилактики и терапии гриппозной инфекции. Предельно важно, чтобы разрабатываемые лекарственные препараты были безопасны для пациента и имели низкий спектр противопоказаний. Дополнительным их свойством должна быть способность на фоне противовирусного эффекта оказывать также и иммуностимулирующий эффект. В настоящем исследовании приведены данные о том, что противогриппозный эффект комплексов миРНК а модели *in vivo* приводит к выраженному иммуномодулирующему эффекту в ВДП и лёгких, в местах введения комплексов миРНК, несмотря на способность вируса гриппа оказывать иммуносупрессирующее действие. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использующиеся в работе миРНК обладают не только противовирусной активностью, но также и иммуномодулирующей активностью, что способствует более эффективному иммунному ответу организма. Дополнительно, данные результаты позволят разработать принципы быстрого проектирования и создания специфических противовирусных средств, предназначенных для защиты от старых и новых патогенных вирусов, обеспечения противоэпидемической безопасности различных групп населения и эффективного ответа на возникновение пандемий и случаев биотерроризма.

Заключение

Использование миРНК на модели *in vivo* приводит к повышению экспрессии исследуемых цитокинов на локальных уровнях в местах введения комплексов миРНК на фоне снижения вирусной репродукции. Это свидетельствует о том, что препараты миРНК способны обладать не только противовирусным эффектом, но также и иммуностимулирующим.

Источник финансирования

Исследование и публикация статьи осуществлены за счёт финансирования в рамках государственного задания.

Участие авторов

Выполнение экспериментов – Пашков Е.А., научное редактирование – Файзулоев Е.Б., общая редакция – Свитич О.А., Зверев В.В.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sellers S.A., Hagan R.S., Hayden F.G., et. al. The hidden burden of influenza: A review of the extra-pulmonary complications of influenza infection. Influenza Other Respir Viruses. 2017 Sep;11(5):372-393. doi: 10.1111/irv.12470.

2. Plotnikova M.A., Klotchenko S.A., Vasin A.V. Development of a multiplex quantitative PCR assay for the analysis of human cytokine gene expression in influenza A virus-infected cells. J Immunol Methods. 2016 Mar;430:51-5. doi: 10.1016/j.jim.2016.01.005

3. Park H.S., Liu G., Thulasi Raman S.N., et. al. NS1 Protein of 2009 Pandemic Influenza A Virus Inhibits Porcine NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1 Beta Production by Suppressing ASC Ubiquitination. J Virol. 2018 Mar 28;92(8):e00022-18. doi: 10.1128/JVI.00022-18.

4. Seo SH, Webster RG. Tumor necrosis factor alpha exerts powerful anti-influenza virus effects in lung epithelial cells. J Virol. 2002 Feb;76(3):1071-6. doi: 10.1128/jvi.76.3.1071-1076.2002. PMID: 11773383; PMCID: PMC135862.

5. Wang X., Wong K., Ouyang W., et. al. Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2019 Feb 1;11(2):a028548. doi: 10.1101/cshperspect.a028548. PMID: 29038121; PMCID: PMC6360861.

6. Zielinski C.E., Mele F., Aschenbrenner D., et. al. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN-γ or IL-10 and are regulated by IL-1β. Nature. 2012 Apr 26;484(7395):514-8. doi: 10.1038/nature10957. PMID: 22466287.

7. Auvinen P., Lipponen P., Johansson R., et. al. Prognostic significance of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 expressions in female breast cancer. Anticancer Res. 1995 Nov-Dec;15(6B):2627-31. PMID: 8669837.

8. Wong K.H., Lal S.K.. Alternative antiviral approaches to combat influenza A virus. Virus Genes. 2023 Feb;59(1):25-35. doi: 10.1007/s11262-022-01935-3. Epub 2022 Oct 19. PMID: 36260242; PMCID: PMC9832087.

9. Pashkov E.A., Momot V.Y., Pak A.V., et. al. [Influence of siRNA complexes on the reproduction of influenza A virus (Orthomyxoviridae: Alphainfluenzavirus) in vivo]. Vopr Virusol. 2023 May 18;68(2):95-104. Russian. doi: 10.36233/0507-4088-159. PMID: 37264844.

10. Bień K., Żmigrodzka M., Orłowski P., et. al. Involvement of Fas/FasL pathway in the murine model of atopic dermatitis. Inflamm Res. 2017 Aug;66(8):679-690. doi: 10.1007/s00011-017-1049-z. Epub 2017 Apr 22. PMID: 28434120; PMCID: PMC5501908.

11. Kobayashi E.H., Suzuki T., Funayama R., et. al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. Nat Commun. 2016 May 23;7:11624. doi: 10.1038/ncomms11624. PMID: 27211851; PMCID: PMC4879264.

12. Hamilton T.A., Ohmori Y., Tebo J. Regulation of chemokine expression by antiinflammatory cytokines. Immunol Res. 2002;25(3):229-45. doi: 10.1385/IR:25:3:229. PMID: 12018462.

13. Xiong H., Chen Z., Zhao J., et. al. TNF-α/ENO1 signaling facilitates testicular phagocytosis by directly activating Elmo1 gene expression in mouse Sertoli cells. FEBS J. 2022 May;289(10):2809-2827. doi: 10.1111/febs.16326. Epub 2022 Jan 7. PMID: 34919331.

Таблицы

Таблица 1. Влияние комплексов миРНК, направленных к генам Nup98 и Nup205 на изменение концентрации цитокинов

Комплекс миРНК	*Экспрессия, ОЕ*								
	Лёгкие			*ВДП*			*Кровь*		
IL-1β	1 сутки	2 сутки	3 сутки	1 Сутки	2 сутки	3 сутки	1 сутки	2 сутки	3 сутки
Nup98.1	1	**-0,6***	1890	1	**+1036,6***	0,03	1	743,2	723,8
Nup205.1	1	**-1,7***	677	1	**+112,6***	12,7	1	6016,6	5169,9
Nup98.1/ Nup205.1	1	**-4,5***	2245	1	**+557,5***	0,2	1	4712,5	698,2
siL2	1	112,4	603	1	0	1,2	1	71446,3	2134,7

IAV	1	100	1748	1	0	0,6	1	14985,6	350,1
IL-6	*Лёгкие*			*ВДП*			*Кровь*		
Nup98.1	1	1	28,7	1	1	34,6	1	1	**-45,2***
Nup205.1	1	1	34,05	1	1	**-25,08***	1	1	**- 63,1***
Nup98.1/ Nup205.1	1	1	48,3	1	1	29,2	1	1	101,8
siL2	1	1	78,5	1	1	38,2	1	1	136,4
IAV	1	1	80,5	1	1	43,6	1	1	151,4
TNF-α	*Лёгкие*			*ВДП*			*Кровь*		
Nup98.1	1	**-333.5***	**-0.05***	1	**+588***	84.14	1	103.5	112.59
Nup205.1	1	620	**-0.4***	1	**+159.5***	20.96	1	601	183.52
Nup98.1/ Nup205.1	1	441	**-0.12***	1	**+200***	0	1	572.5	741.2
siL2	1	1286.5	33.8	1	70.5	56.46	1	793	4695.75
IAV	1	833	34	1	26	22.24	1	1275.5	6890.89
IL-10	*Лёгкие*			*ВДП*			*Кровь*		
Nup98.1	1	1	**+ 52,9***	1	1	12,1	1	1	90,09
Nup205.1	1	1	92,6	1	1	**+ 570***	1	1	4472,6
Nup98.1/ Nup205.1	1	1	**+ 183***	1	1	7,3	1	1	4543,2
siL2	1	1	5,4	1	1	254,8	1	1	42467,7
IAV	1	1	1,2	1	1	134	1	1	58280,7
TGF-β1	*Лёгкие*			*ВДП*			*Кровь*		
Nup98.1	1	1	**-29,9**	1	1	76,61	1	1	**+2***
Nup205.1	1	1	**-53,2**	1	1	97,34	1	1	**+1,5***
Nup98.1/ Nup205.1	1	1	**-63,1***	1	1	132,325	1	1	**-0,9***
siL2	1	1	260,145	1	1	198,67	1	1	80,67
IAV	1	1	146,185	1	1	126,32	1	1	1,75

Рисунки

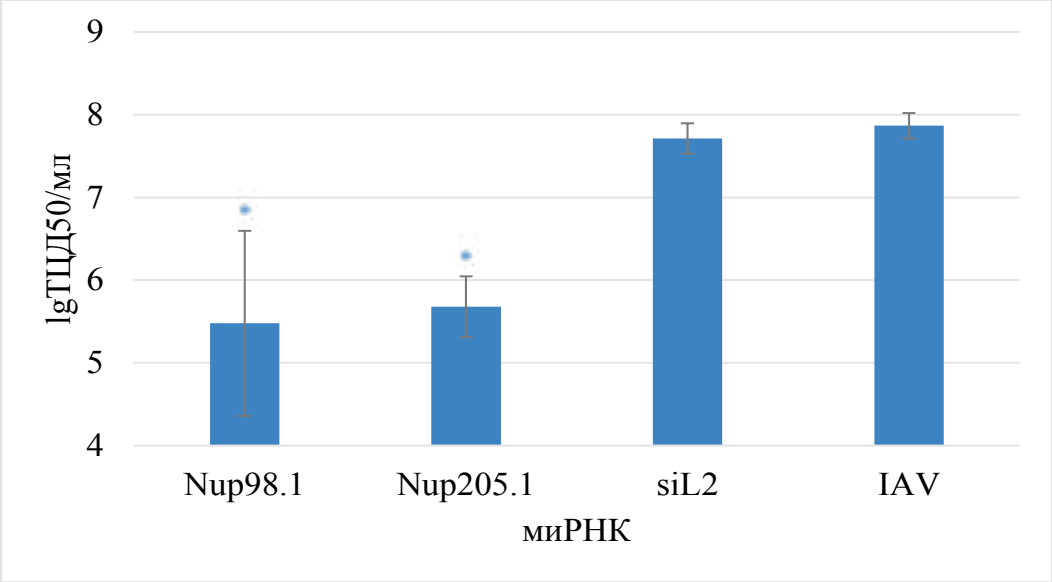


Рисунок 1. Влияние подавления генов *Nup98* и *Nup205,* посредством миРНК, на репродукцию вируса гриппа A/California/7/09 (H_1N_1) на третьи сутки с момента трансфекции при LD50. (На оси абсцисс названия миРНК; на оси ординат представлен показатель вирусного титра). * - $p < 0.05$ относительно неспецифической siL2

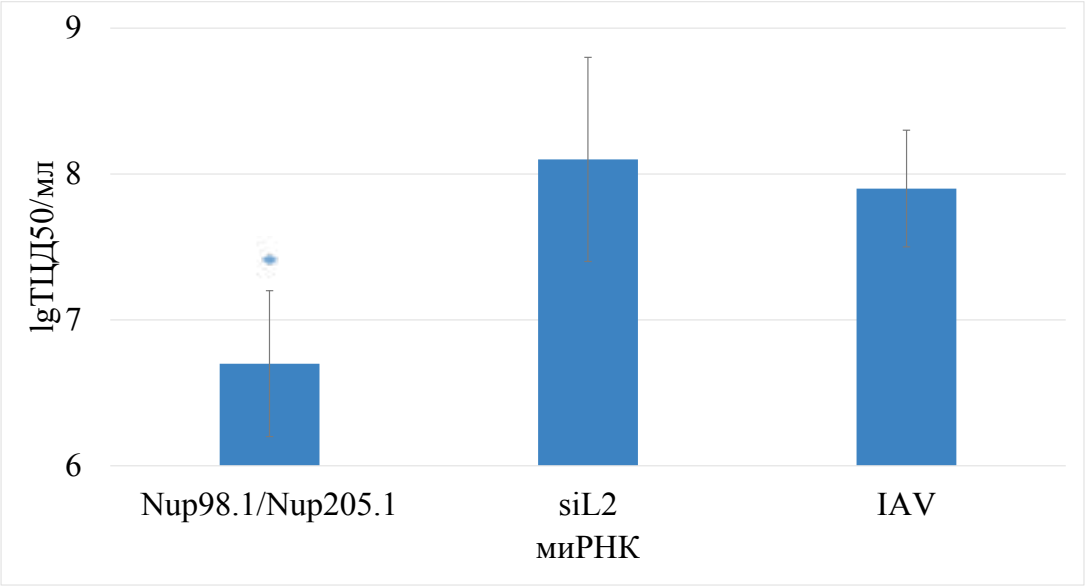


Рисунок 2. Влияние пула миРНК Nup98.1/Nup205.1 на репродукцию вируса гриппа A/California/7/09 (H_1N_1) в легких мышей на третьи сутки с момента трансфекции при LD50 по результатам титрования по ЦПД. (На оси абсцисс названия миРНК; на оси ординат представлен показатель вирусного титра). * - $p < 0.05$ относительно неспецифической siL2

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Пашков Евгений Алексеевич [**Evgeny A. Pashkov**]; адрес: Россия, 125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 10 [address: 11/10, Mokhovaya street, 125009, Moscow, Russia]; телефон: +7(495)629-75-79; **ORCID:** 0000-0002-5682-4581; **e-mail:** pashckov.j@yandex.ru

Соавторы:

Файзулоев Евгений Бахтиёрович, к.б.н., [**Evgeny B. Faizuloev**, PhD.]; **e-mail: f**aizuloev@mail.ru; **ORCID:** 0000-0001-7385-5083

Свитич Оксана Анатольевна, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор [**Oxana A. Svitich,** Corresponding member of RAS, MD, professor]; **e-mail:** svitichoa@yandex.ru; **ORCID:** 0000-0003-1757-8389

Зверев Виталий Васильевич, акад. РАН, д-р биол. наук, профессор [**Vitaliy V. Zverev,** Academician of RAS, Doctor of Biological Sciences, professor]; **e-mail:** vitalyzverev@outlook.com; **ORCID:** 0000-0002-0017-1892

РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКОБАКТЕРИОЗА, СОЧЕТАНИЯ МИКОБАКТЕРИОЗА И ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЕГКИХ И ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

Л.П. Северова, Д.Б. Гиллер, И.И. Мартель

Кафедра фтизиопульмонологии и торакальной хирургии ИКМ им. Н.В. Склифосовского ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета)

***Абстракт**:* при сочетании ТБ и МБ легких существует высокая вероятность ошибочной диагностики туберкулеза при микобактериозе легких или наоборот, также крайне редко рассматривается возможность единовременного присутствия в организме больного возбудителя ТБ и МБ. Нами был выполнен анализ рентгенологических проявлений у пациентов трех групп: с микобактериозом легких (группа 1), с сочетанием микобактериоза и туберкулеза легких (группа 2) и с фибрознокавернозным туберкулезом с широкой лекарственной устойчивостью (группа 3). В качестве наиболее значимых отличий между группами следует отметить большую частоту легочных геморрагий у пациентов первой (25%) и второй (17,4%) группы по сравнению с третьей (2,5%) группой. Не было обнаружено патогномоничных высокодостоверных рентгенологических симптомов сочетания микобактериоза и туберкулёза легких. Однако наличие торпидного течения, кровохарканья и бронхоэктазов при наличии МБТ в мокроте позволяет заподозрить сочетание ТБ с МБ, что требует углубленного бактериологического исследования.

Ключевые слова: туберкулез легких, микобактериоз легких, рентгенология

Введение

При сочетании ТБ и МБ легких существует высокая вероятность ошибочной диагностики туберкулеза при микобактериозе легких или наоборот, также крайне редко рассматривается возможность единовременного присутствия в организме больного возбудителя ТБ и МБ. Это связано со схожестью клинических и рентгенологических проявлений этих заболеваний, трудности микробиологической диагностики [1–4].

Нам кажется целесообразным оценить схожесть и различия рентгенологических проявлений сочетания ТБ и МБ легких, в сравнении с изолированным фиброзно-кавернозным ТБ с широкой лекарственной устойчивостью (ФКТ ШЛУ) и с изолированным МБ для выявления их особенностей [1–14]. Это может позволить выявить врачу ситуации, когда требуется направить пациентов на дополнительное обследования для выявления не только микобактерий туберкулезного комплекса, но и нетуберкулезных микобактерий (НТМБ). Так как именно

нахождение НТМБ в мокроте, бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ), биопсийном и операционном материале является основой для достоверной верификации микобактериоза.

Материалы и методы

Нами проведено ретроспективное исследование.

Выполнен анализ медицинской документации всех больных, прооперированных в промежутке с января 2011 г. по декабрь 2017 г. Всего проанализировано 2432 карты. Таким образом за 7 лет было выявлено 1918 пациентов с туберкулезом легких, 20 с микобактериозом легких(группа 1), 23 с сочетанием микобактериоза и туберкулеза легких(Группа 2) и у 471 выявлены другие заболевания легких.

Перед операцией у 12 пациентов были выделены НТМБ, 10 из них попали в Группу 1 и 2 в Группу 2 после уточнения диагноза после операции. У 11 пациентов отмечалось одновременное выделение НТМБ и МБТ до операции, они попали в Группу 2. Еще 16 человек не имели микробиологически подтвержденного диагноза до операции, они вошли в разные группы в зависимости от установленного после операции точного диагноза (Рисунок 1).

С целью сравнения рентгенологической картины сочетания ТБ и МБ, и изолированных МБ и ФКТ ШЛУ методом случайных чисел из 311 больных ФКТ ШЛУ было отобрано 40(Группа 3) (Рисунок 1). Выбор группы сравнения был обусловлен тем, что больные ФКТ ШЛУ общепризнано считаются тяжелой группой больных, трудно поддаются химиотерапевтическому лечению, а также операции у этих больных сопряжены с большим риском и трудностями, чем при большинстве других форм туберкулеза [15–19].

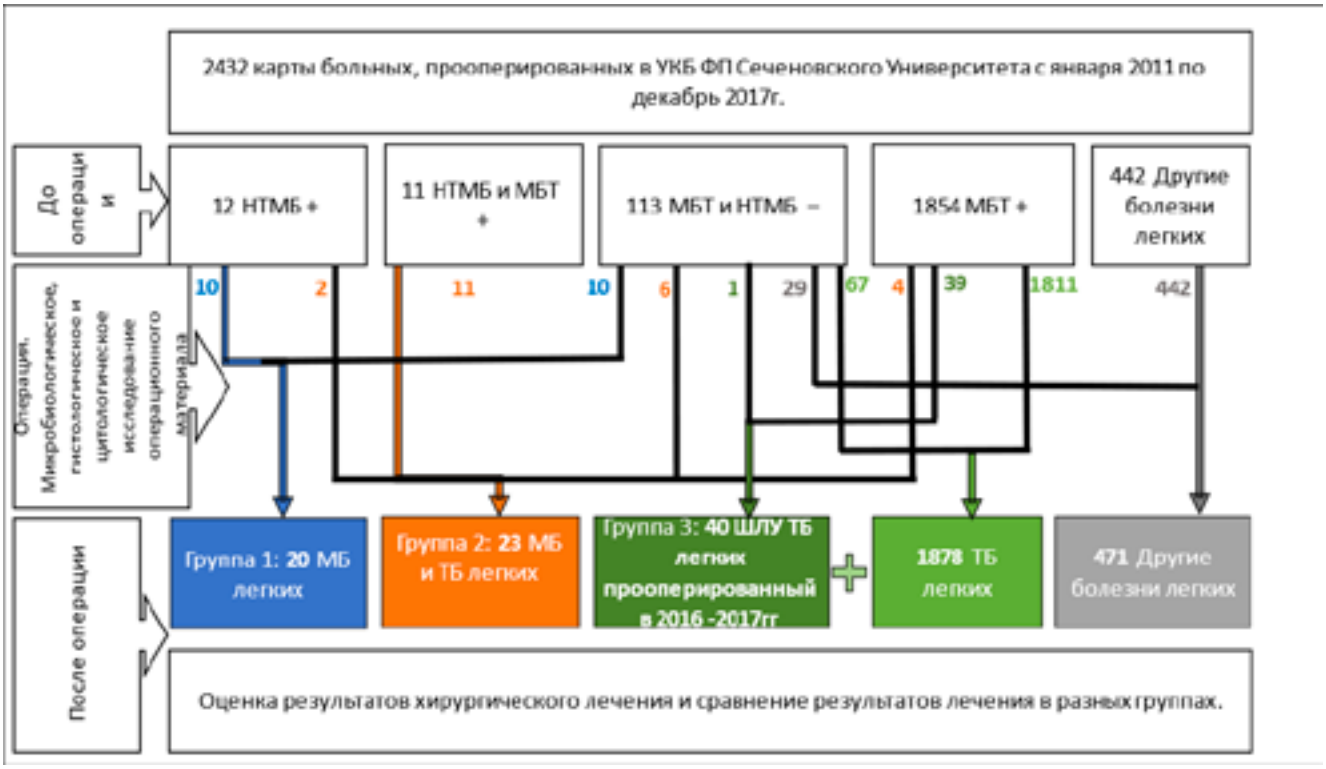


Рисунок 1. Дизайн исследования

Всем пациентам с микобактериозом был установлен диагноз в соответствии с рекомендациями ATS/IDSA 2007г [20]. Все пациенты были ВИЧ отрицательными. Пациентам назначалась консервативное лечение в учреждении, где был установлен диагноз.

Химиотерапия МБ и ТБ в нашей клинике назначалась индивидуально в соответствии с данными лекарственной устойчивости и клиническими рекомендациями. Больные с ФКТ ШЛУ диагностировались по данным комплексной оценки культуральных и молекулярно-генетических методов исследования, рентгенологических данных и данных истории болезни. При назначении химиотерапии туберкулеза больным 3 группы в период с 2011г. по 2014г. придерживались приказа МЗ РФ от 21.03.2003г. № 109, а в период с 2015г. по 2017г. противотуберкулезная химиотерапия проводилась в соответствии с приказом МЗ РФ от 29.12.2014г. № 951 [21,22].

Многопрофильная медицинская комиссия принимала решение о необходимости операции при неэффективности адекватной антибактериальной терапии; сохраняющимся высоком риске бактериовыделения/рецидива бактериовыделения; наличии полостей в легочной ткани; осложнениях в виде кровохарканья, пневмоторакса; неясном диагнозе.

Послеоперационное ведение включало продолжение антибактериальной терапии, ее коррекцию при появлении новых данных о лекарственной резистентности после анализа операционного материала, назначение сезонных курсов химиопрофилактики при необходимости, и регулярное наблюдение и ежегодное рентгенологическое исследование плюс осмотры не менее 3 лет после операции. Больные с диагнозом туберкулез легких находились на учете у фтизиатра по месту жительства.

Статистический анализ проводился с использованием IBM SPSS Statistics 22.0. Достоверность разницы частот определяли с помощью критерия хи-квадрат, при попарном сравнении - в точном варианте теста. В связи с малочисленностью больных при сравнении распределений переменных шкального типа в группах применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, затем данные представляли в виде медиан и квартилей. Доверительные границы для частоты были рассчитаны с использованием биномиального распределения. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$; при множественных сравнениях учитывается возможность ложноположительных различий.

Результаты

В группах не было найдено статистически значимых различий по полу и возрасту. При сопоставлении половой принадлежности выявлено большая доля женщин в 1 и 2 группах (50,0% и 60,9% соответственно) по сравнению с 3(32,5%), различия между ними не были статистически значимы.

До операции бактериовыделение отмечалось у 69 (83,13%) пациентов. В Группе 1 НТМБ выделяло 50,0% пациентов и в Группе 2 МБТ выделяло 69,6% пациентов, а НТМБ 56,5%. Таким образом бактериовыделение до операции в Группах 1 и 2 встречалось реже, чем в Группе 3 (МБТ в 97,5% случаев) ($p<0,001$).

Всего легочные деструкции имели 77 (92,8%) пациентов всех трех групп, в том числе одиночные 32 (38,6%) и множественные 45 (54,2%). Односторонние деструкции отмечены в 59 (71,1%) случаях и двусторонние в 18 (21,7%). Размер полостей в основном составлял от 2 до 4 см – во всех трех группах пациентов. Поражение более 10 сегментов легких отмечалось у 19 (47,5%) пациентов 3 группы, 5 человек (25%) первой и 5 (21,74%) второй.

Рентгенологическая картина при поступлении характеризовалась большим разнообразием. В группе больных микобактериозом, как и в группе сочетания микобактериоза с туберкулезом, у большинства пациентов процесс в легких был односторонним (65% и 73% соответственно), тогда как в группе больных ФКТ ШЛУ преобладали двусторонние процессы (62%). В половине случаев в 1 группе процесс был ограниченным (до 3 сегментов), тогда как во 2 группе у большинства (82,6%) пациентов наблюдался распространенный процесс, а в 3 группе частота распространенного поражения легких достигала 97,5%.

В 1 группе рентгенологическая картина была наиболее разнообразной (Таблица 1, Таблица 2). Очаговое обсеменение легких отмечалось у 10 (50%) пациентов, толстостенные полости у 8 (40%) пациентов, тонкостенные полости у 1 (5%) пациента, округлые тени более 1 см в диаметре с распадом у 5 (25%) пациентов, без распада у 2 (10%), мультифокальные бронхоэктазы в сочетании с другими проявлениями у 4 (20%) пациентов, инфильтраты в легком у 4 (20%), участки типа «матового стекла» у 1 (5%), перициссурит у 1 (5%), объемное уменьшение доли или легкого у 4 (20%), утолщение стенки бронхов у 4 (20%), увеличение ВГЛУ у 5 (25%), пневмофиброз у 2 (10%). В отличие от рентгенологической картины у больных микобактериозом, у пациентов с ФКТ ШЛУ во всех случаях отмечено наличие толстостенных полостей, очагового обсеменения, объемного уменьшения доли или легкого, пневмосклероза. Чаще, чем при микобактериозе отмечались инфильтративные изменения в легочной ткани.

Таблица 1. Варианты рентгенологической картины при поступлении в анализируемых группах больных

Показатель	Категории	Группа больных			p
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	
Основной рентгенологический синдром при поступлении	Округлые образования менее 1 см без распада	2 (10,0%)	0	0	$< 0,001^*$ $p_{Группа1 – Группа3} < 0,001$
	Округлые образования более 1 см без распада	2 (10,0%)	0	0	

	Округлые образования более 1 см с распадом	5 (25,0%)	3 (13,0%)	0	
	Тонкостенные полости (каверны)	1 (5,0%)	5 (21,7%)	0	
	Толстостенная(ые) полость(и) (каверны)	8 (40,0%)	15 (65,2%)	40 (100,0%)	
	Бронхоэктазы	2 (10,0%)	0	0	

Таблица 2. Рентгенологическая картина при поступлении

Характеристики рентгенологической картины	Количество случаев			p
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	
Односторонние изменения	13 (65,0%)	17 (73,9%)	15 (37,5%)	0,011* pГруппа $_2$ – Группа$_3$=0,016
Двусторонние изменения	7 (35,0%)	6 (26,1%)	25 (62,5%)	
Ограниченный процесс (объем до 3 сегментов)	10 (50,0%)	4 (17,4%)	1 (2,5%)	0,005* pГруппа $_1$ – Группа $_3$=0,002
Распространенный процесс (объем более 3 сегментов)	10 (50,0%)	19 (82,6%)	39 (97,5%)	
Локализация основного поражения в С 1, С2	7 (35,0%)	13 (56,5%)	33 (82,5%)	
Локализация основного поражения в С 6	4 (20,0%)	3 (13,0%)	7 (17,5%)	
Локализация основного поражения в С 3	1 (5,0%)	3 (13,0%)	0	
Локализация основного поражения в С 4, С 5	6 (30,0%)	2 (8,7%)	0	
Локализация основного поражения в С 7- С 10	2 (10,0%)	2 (8,7%)	0	
Изменения по типу матового стекла	1 (5,0%)	1 (4,3%)	0	
Инфильтраты	4 (20,0%)	3 (13,0%)	11 (27,5%)	
Округлые образования менее 1 см (очаги)	10 (50,0%)	15 (65,2%)	40 (100,0%)	0,001* pГруппа $_1$ – Группа 2=0,049 pГруппа $_1$ – Группа $_3$= 0,010
Тенеобразование более 1 см без распада (туберкулема)	2 (10,0%)	0	0	0,040*
Тенеобразование с распадом более 1 см (туберкулема)	5 (25,0%)	3 (13,0%)	0	0,007* pГруппа $_1$ – Группа $_3$= 0,003 pГруппа $_2$ – Группа $_3$= 0,039
Тонкостенные полости (каверны)	1 (5,0%)	5 (21,7%)	0	0,005* pГруппа $_2$ – Группа $_3$= 0,006
Толстостенные полости (фиброзные каверны)	8 (40,0%)	15 (65,2%)	40 (100,0%)	<0,001* pГруппа $_1$ – Группа $_3$< 0,001 pГруппа $_2$ – Группа $_3$<0,001
Перициссурит	1 (5,0%)	4 (17,4%)	8 (20,0%)	

Объемное уменьшение доли или всего легкого	4 (20,0%)	13 (56,5%)	40 (100,0%)	
Мультифокальные бронхоэктазы	4 (20,0%)	10 (43,5%)	1 (2,5%)	
Утолщение стенки бронхов	4 (20,0%)	8 (34,8%)	9 (22,5%)	
Увеличение ВГЛУ	5 (25,0%)	8 (34,8%)	16 (40,0%)	
Цирротические изменения (пневмофиброз)	2 (10,0%)	9 (39,1%)	40 (100,0%)	
Утолщение плевральных листков, плевральный экссудат	0	4 (17,4%)	4 (10,0%)	0,069

Сопутствующие заболевания выявлены у 72 больных во всех трех группах. Всего отмечено 180 случаев сопутствующей патологии. Наиболее часто встречались хронический бронхит и ХОБЛ у 41 пациента.

У многих пациентов отмечались осложнения основного легочного процесса (Таблица 3). Самыми частыми были дыхательная недостаточность у 63 пациентов, специфическое поражение трахеи, гортани или бронхов у 14 и кровохарканье у 10 пациентов. Дыхательная недостаточность отмечалась у большинства больных, причем ДН III была выявлена у 14 (16,9%) пациентов, ДН II – у 25 (30,1%). Исходя из полученных данных при сопоставлении частоты осложнений в виде кровохарканья и дыхательной недостаточности наблюдались статистически значимые различия в зависимости от диагноза (p=0,027, p=0,005 соответственно) (используемые методы: Хи-квадрат Пирсона).

Таблица 3. Характеристика и частота встречаемости осложнений легочного процесса

Характер осложнений	Количество осложнений		
	Группа 1, n=20	Группа 2, N=23	Группа 3, n=40
ДН	10 (50%)	21 (91,3%)	32 (80,0%)
Кровохарканье, легочное кровотечение ($0,027*p_{\text{Группа 1 – Группа 3}}=0,019$)	5 (25,0%)	4 (17,4%)	1 (2,5%)
Спонтанный пневмоторакс	1 (5,0%)	0	0
Эмпиема	0 (0,0)	3 (13,0%)	4 (10,0%)
Бронхостеноз	0	3 (13,0%)	5 (12,5%)
Специфическое поражение гортани, трахеи или бронхов (p= 0,069)	0	5 (21,7%)	9 (22,5%)
Аспергиллез	1 (5,0%)	0	0
Всего пациентов с осложнениями	10 (50%)	21 (91,3%)	35 (87,5%)

До операции у 8 больных 1 группы (53,3%) назначался I режим стандартной противотуберкулезной терапии, поскольку у них не было бактериовыделения, и диагноз микобактериоза не был установлен. Больным, у которых обнаруживались НТМБ в мокроте до операции (7 пациентов - 46,7%), назначали индивидуальный режим химиотерапии в зависимости от вида НТМБ и данных о ЛУ. У трех больных 2 группы и у четырех больных 1 группы до операции не была назначена терапия, в связи с тем, что диагноз был не ясен и планировалась диагностическая операция.

Всего у 83 больных было выполнено 156 операций (Таблица 4).

Таблица 4. Типы операций в различных группах оперированных

Тип операции	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Всего/ из них малоинвазивным доступом
	Всего	ВАТС	Всего	ВАТС	Всего	ВАТС	
Клиновидная резекция	14 (50,0%)	14	8 (19,5%)	8	4 (4,6%)	4	26/26
Сегментэктомия	5 (17,9%)	3	0	0	11 (12,6%)	11	16/14
Лобэктомия с сегментэктомией	2 (7,1%)	0	5 (12,2%)	4	7 (8,0%)	5	14/9
Лобэктомия	0	0	6 (14,6%)	3	10 (11,5%)	6	16/9
Билобэктомия	0	0	2 (4,9%)	2	1 (1,1%)	0	3/2
Пневмонэктомия	1 (3,6%)	0	3 (7,3%)	0	8 (9,2%)	0	12/0
Трансстернальная окклюзия главного бронха	0	0	0	0	5 (5,7%)	0	5/0
Торакоцентез	3 (10,7%)		2 (4,9%)		4 (4,6%)		9/9
Плеврэктомия с клиновидной резекцией	0	0	1 (2,4%)	1	0	0	1/1
Торакопластика	3 (10,7%)	3	13 (31,7%)	11	31 (35,6%)	26	47/40
Реторакопластика	0	0	0	0	2 (2,3%)	2	2/2
Эндобронхиальный клапан	0		0		1 (1,1%)		1/1
Прочие	0	0	1 (2,4%)		3 (3,4%)		4/4
Всего:	28 (100,0%)	20 (71,4%)	41 (100,0%)	29 (70,7%)	87 (100,0%)	54 (62,1%)	156 (100%)/ 117(75,0%)

Через ВАТС доступ по оригинальной методике[23] в Группе 1 было выполнено 71,4% операций, в Группе 2 – 70,7%, в Группе 3 – 62,1%.

Послеоперационное ведение включало в себя продолжение химиотерапии с ее коррекцией, при появлении новых данных о ЛУ после исследования послеоперационного материала, а также в дальнейшем, назначение сезонных курсов химиопрофилактики по необходимости. Пациенты с диагнозом туберкулез легких состояли на диспансерном учете у фтизиатра по м/ж и получали регулярное наблюдение и ежегодный рентгенологический контроль на протяжении минимум трех лет после операции.

Обсуждение

Пациенты всех трех групп имели высокую частоту наличия легочных деструкций (70% в первой, 100% во второй и 100% в третьей группе), осложнений легочного процесса (50%; 73,9%; 60% соответственно), дыхательной недостаточности (50%; 91,3%; 80% соответственно), сопутствующих заболеваний (80%; 87%; 90% соответственно), сохранения бактериовыделения на момент операции (50%; 73,9%; 97,5% соответственно).

Кровохарканье встречалося в первой и второй группе значительно чаще, чем в третьей. Хорошо известно, что у больных легочным ТБ часто наблюдается кровохарканье [24,25]. С другой стороны, исследований, изучающих кровохарканье у пациентов с МБ, не так уж и много [26,27], и мы не находим ни одного среди пациентов с сочетанием МБ и ТБ.

У больных с сочетанием микобактериальной и туберкулезной инфекции рентгенологическая картина включала ту же гамму изменений, что у больных 1 и 3 групп однако несмотря на то, что большинство авторов отмечают сходную рентгенкартину туберкулеза и микобактериоза, нахождение бронхоэктазов позволяет заподозрить микобактериальную инфекцию, а наличие обсеменения с выраженным пневмофиброзом чаще встречается при туберкулезе [28]. Так у 14 (32,6%) пациентов 1 и 2 групп определены мультифокальные бронхоэктазы, тогда как в группе больных туберкулезом они встречаются в 13 раз реже и были найдены только у 1 (2,5%) больного.

Заключение

В качестве наиболее значимых отличий между группами следует отметить большую частоту легочных геморрагий у пациентов первой (25%) и второй (17,4%) группы по сравнению с третьей (2,5%) группой. Большей распространенностью (количеством легочных деструкций, частотой двустороннего поражения и числом пораженных легочных сегментов) отличалась третья группа, а наименьшим первая. Сочетание микобактериоза с туберкулезом (2 группа) по

показателям распространенности и тяжести течения процесса занимало промежуточную позицию, существенно отличаясь от 1 группы в худшую сторону.

Таким образом, в рентгенологической картине сочетания туберкулеза и микобактериоза легких нет патогномоничных клинико-рентгенологических симптомов, что отмечается большинством авторов [2,29,30]. Однако наличие торпидного течения, кровохарканья и бронхоэктазов при наличии МБТ в мокроте позволяет заподозрить сочетание ТБ с МБ, что требует углубленного бактериологического исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карпина Н.Л. и др. Клинические и микробиологические аспекты диагностики нетуберкулезных микобактериозов при полостных образованиях в легких // Вестник ЦНИИТ, 2020.Т. 1, № 4. Стр. 73–80.
2. Анисимова А.И. и др. Микобактериозы легких: сложности диагностики и лечения (обзор литературы) // Медицинский альянс. 2020. Т. 8, № 1. Стр. 25–31.
3. Корж Е.В. и др. Микобактериозы легких у больных туберкулезом // Университетская клиника. 2019. Т. 4, № 33. Стр. 74.
4. Межебовский В.Р. и др. Выявляемость нетуберкулезных микобактерий среди больных туберкулезом легких, проживающих в территориях с различной экологической отягощенностью // Современные проблемы науки и образования (Modern Problems of Science and Education), 2021. Т. 3, № 3. Стр. 153–153.
5. Егорова А.Д., Киселева Е.А., Борисова А.Ю. Нетуберкулезный микобактериоз легких, вызванный M. avium complex, – клинические проявления и КТ-паттерны // Вестник ЦНИИТ., 2021. № S1. Стр. 102–103.
6. Макарова М.В., Гунтупова Л.Д. Нетуберкулезные микобактерии // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2020.Т. 20, № 2. Стр. 97–102.
7. Литвинов В. и др. Микобактериозы органов дыхания // Туберкулёз и социально значимые заболевания. 2019. № 4. Стр. 32–47.
8. Владимирова Е.Б. и др. Нетуберкулезный микобактериоз легких – возможности диагностики в практике пульмонолога // Терапевтический архив, 2019. Т. 91, № 11. Стр. 26–31.
9. Зайцева А.С. Нетуберкулезные микобактериозы легких: клинические рекомендации британского торакального общества // Вестник ЦНИИТ, 2018. № 4. Стр. 6–17.
10. Ларионова Е.Е. и др. Микробиологическая диагностика сопутствующей микобактериальной инфекции при фиброзном кистозе (муковисцидозе) // Уральский медицинский журнал. 2018. Т. 08, № 163. Стр. 65–68.
11. Севастьянова Э.В. и др. Оценка результатов выявления микобактерий, полученных различными методами исследования // Медицинский Альянс. 2018. № 3. Стр. 25–30.
12. Смирнова Т.Г. и др. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов Genotype Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия) // Туберкулёз и болезни лёгких., 2017. Т. 95, № 5. Стр. 54–59.
13. Елисеев П.И. и др. Диагностика и лечение легочного микобактериоза у пациентов с подозрением на туберкулез легких // Туберкулез и болезни легких. 2018. Т. 96, № 7. стр. 61–62.

14. Литвинов В.И. Нетуберкулезные микобактерии, микобактериозы // Вестник ЦИИТ. 2018. № 2. стр. 5–20.
15. Freixinet J. Surgical indications for treatment of pulmonary tuberculosis // World J Surg. World J Surg, 1997. Vol. 21, № 5. P. 475–479.
16. Пехтусов В.А. и др. Влияние хирургической санации контингентов больных деструктивным туберкулезом на основные показатели распространенности и смертности от туберкулеза // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова, 2020. № 2. Стр. 48–52.
17. Bai L. et al. Surgical treatment efficacy in 172 cases of tuberculosis-destroyed lungs // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2012. Vol. 41, № 2. P. 335–340.
18. Kas J. et al. A komplettáló pneumonectomia javallatai és perioperatív eredményei [Indications and perioperative results of completion pneumonectomy] // Magy Seb. Akademiai Kiado Zrt., 2019. Vol. 72, № 4. P. 149–160.
19. Global tuberculosis report 2023. 2023.
20. Griffith D.E. et al. An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases // Am J Respir Crit Care Med. American Thoracic Society, 2007. Vol. 175, № 4. P. 367–416.
21. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2003 г. №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации » [Электронный ресурс]. 2003. URL: https://docs.cntd.ru/document/901868614 (получено: 15.08.2022).
22. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 29 декабря 2014 г. № 951 “Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания” [Электронный ресурс]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70749840/ (получено: 15.08.2022).
23. Giller D.B. et al. Video-assisted thoracoplasty in pulmonary tuberculosis: a retrospective study // J Thorac Dis. AME Publishing Company, 2020. Vol. 12, № 3. P. 980–988.
24. Munjal S.K. et al. Clinical profile of patients hospitalized with hemoptysis. // J Family Med Prim Care. Medknow, 2022. Vol. 11, № 11. P. 7267–7271.
25. Quigley N., Gagnon S., Fortin M. Aetiology, diagnosis and treatment of moderate-to-severe haemoptysis in a North American academic centre. // ERJ Open Res. European Respiratory Society, 2020. Vol. 6, № 4. P. 1–10.
26. Ogata H. et al. Association of serum antibodies against the Mycobacterium avium complex and hemoptysis: a cross-sectional study // BMC Infect Dis. BioMed Central, 2021. Vol. 21, № 1.
27. Lee S.H. et al. Hemoptysis requiring bronchial artery embolization in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease // BMC Pulm Med. BioMed Central, 2019. Vol. 19, № 1.
28. Kwak N. et al. Non-tuberculous mycobacterial lung disease: diagnosis based on computed tomography of the chest // Eur Radiol. Springer Verlag, 2016. Vol. 26, № 12. P. 4449–4456.
29. Haworth C.S. et al. British Thoracic Society guidelines for the management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) // Thorax. BMJ Publishing Group Ltd, 2017. Vol. 72, № Suppl 2. P. ii1–ii64.
30. Griffith D.E. et al. Nontuberculous Mycobacterial Disease // ERS Handbook Respiratory Medicine. 1st ed. / ed. Griffith D.E. Cham: Humana Press, 2019. 1–515 p.

ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ПИЩЕВОГО КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА КАК ЭМЕРДЖЕНТНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.В. Стеценко

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

Из числа известных в настоящее время бактериальных пищевых инфекций заболевания, вызываемые возбудителями рода *Campylobacter*, являются наиболее широко распространенными и труднопреодолеваемыми в системе обеспечения безопасности пищевых продуктов и профилактики кампилобактериоза. В течение последних десятилетий в индустриальных странах отмечается резкий рост заболеваемости кампилобактериозом, число случаев которого стало превалировать над другими гастроэнтеритами бактериальной природы. Высокие уровни заболеваемости кампилобактериозом и большой социально-экономический ущерб от этого заболевания объясняют его включение в список эмерджентных пищевых инфекций, к которым в настоящее время относят представителей родов *Salmonella, Escherichia, Campylobacter, Listeria* [1].

В этиологической структуре острых кишечных инфекций (ОКИ), вызванных бактериальными возбудителями, в Российской Федерации первое место занимает сальмонеллез, заболеваемость которым в 2022 году составила 17,1 на 100 тыс. населения [14]. Такая же ситуация складывается и в США. Об этом свидетельствуют данные Центров по контролю и профилактике заболеваний (European Center For Disease Prevention And Control, CDC), уровень заболеваемости сальмонеллезом в 2022 году составил 16,3 на 100 тыс. населения. В европейских странах, по данным ВОЗ, кампилобактериоз опережает сальмонеллез, занимая 1-е место по значимости среди пищевых зоонозов [11]. Начиная с 2005 года, это заболевание в ЕС составляло почти 70% зарегистрированных случаев ОКИ. В 2022 г. количество подтвержденных случаев кампилобактериоза составило 120 946, уровень заболеваемости - 40,3 на 100 тыс. [3]. Ситуация в России отличается от таковой в странах ЕС и США. Согласно данным Роспотребнадзора заболеваемость кампилобактериозом за последние 10 лет имела тенденцию к умеренному росту, однако её уровень остается довольно низким - 2,52 на 100 тыс. населения в 2022 г. [14], что, вероятно, отражает неполную картину заболеваемости. Следует также отметить, что данная нозология чаще всего учитывается в сумме с ОКИ неустановленной этиологии, которая, согласно официальной статистике, в РФ возрастает. Во многом это связано с трудностями лабораторной диагностики.

Постоянная тенденция к росту заболеваемости кампилобактериозом обусловливают необходимость более четкого понимания эпидемиологии и разработки эффективных мер контроля данной инфекции.

Кампилобактериоз - острая зоонозная инфекция с преимущественным поражением пищеварительного тракта. Локализованная форма кампилобактериоза в большинстве случаев протекает по типу гастроэнтерита или гастроэнтероколита; помимо диареи у пострадавших могут также наблюдаться лихорадка, головная боль и рвота, генерализованная форма сопровождается развитием септицемии или септикопиемии [6]. Клиническое значение для человека имеет группа термофильных кампилобактеров, включая *C. jejuni ssp. jejuni*, *C. jejuni ssp. doylei*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* и *C.helveticus* [5]. Наиболее значимым видом является *Campylobacter jejuni*, на долю которого приходится от 90 до 95% всех зарегистрированных случаев кампилобактериоза [9].

Продукты птицеводства, зараженные термофильными кампилобактерами, считаются одними из основных этиологических факторов передачи кампилобактериоза у людей, а потому присутствие *Campylobacter spp.* в цепи производства кур-бройлеров представляет собой серьезную угрозу для здоровья населения [2].

По данным Европейского агентства по пищевой безопасности (European Food Safety Authority, EFSA) большинство европейских стран внедрили систему надзора за кампилобактерами в производственной цепи получения мяса бройлеров, целью которой является снижение степени загрязнения сырья этими патогенами.

В настоящее время в Европе используют две группы микробиологических критериев: критерии безопасности («Food Safety Criteria») и критерии гигиены производства («Process Hygiene Criteria») [7]. Критерии безопасности устанавливают допустимые уровни содержания патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах (*Salmonella, Listeria monocytogenes, E. sakazakii (Cronobacter)*, *E.coli*) при выпуске их в обращение. Критерии гигиены (*Salmonella*, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* и др.) установлены для процессов изготовления отдельных групп пищевых продуктов с целью принятия корректирующих действий в критических контрольных точках производства (Hazard Analysis and Critical Control Point, ХАССП) и обеспечения надлежащей производственной практики.

В 2018 г. комиссия ЕС впервые установила критерий гигиены процесса для *Campylobacter spp*., основанный на количественном определении патогена в образцах кожи шеи бройлеров, - не более 1000 КОЕ/г в 15 пробах из 50 анализируемых образцов. Этот критерий может быть применим к отдельным партиям сырых птицепродуктов при их выпуске на рынок. С 2025 года во всех странах-членах ЕС планируется установить более жесткий критерий не более 1000 КОЕ/г в 10 из 50 проб [4, 8, 10].

В Российской Федерации гигиенические нормативы по микробиологическим показателям безопасности пищевых продуктов включает различные группы микроорганизмов. К числу нормируемых патогенов относятся *Salmonella* (патогенные микроорганизмы, в том числе

сальмонеллы), *L.monocytogenes* и *E. sakazakii (Cronobacter).* Гигиеническое нормирование патогенных кампилобактеров в пищевых продуктах, включая мясо птицы и продукты его переработки, на сегодняшний день не проводится.

Необходимость разработки системы мер по предупреждению и минимизации риска загрязнения пищевых продуктов кампилобактерами в процессе производства, хранения, транспортирования и реализации продукции регламентирована действующими в Российской Федерации СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (ст.16 «В целях предупреждения возникновения и распространения инфекционных болезней пищевая продукция, находящаяся в обращении, в течение срока годности при использовании по назначению должна быть безопасна в эпидемиологическом отношении и соответствовать санитарно-эпидемиологическим требованиям»). Это обусловливает необходимость повышения эффективности профилактических мероприятий в отношении кампилобактериоза и предупреждения его распространения, включая порядок их производственного контроля в критических точках потенциальной контаминации возбудителями кампилобактериоза, и государственного надзора.

Для оценки характера и анализа количественных уровней контаминации пищевых продуктов бактериями рода *Campylobacter* в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» были проведены скрининговые исследования 250 образцов пищевой продукции, в том числе: 110 образцов мяса цыплят-бройлеров и субпродуктов куриных сырых, индейки, перепелов; 50 образцов мяса свинины, говядины и баранины (кусковые и фаршевые полуфабрикаты, субпродукты); 60 проб сырого молока из центральных областей РФ.

На основании результатов проведенных исследований установлено, что наиболее высокая частота обнаружения *Campylobacter spp.* характерна для сырых птицепродуктов и производимых из них полуфабрикатов. Число положительных проб в этой группе продукции составило 50,9%, из которых 5,4 % были контаминированы *Campylobacter spp.* в количестве более 1000 КОЕ/г. При этом патогенные бактерии рода *Salmonella* были обнаружены в 19,0% (n=110) исследованных образцов мяса птицы. В большинстве случаев *Campylobacter spp.* выделяли из образцов, обсемененных колиформными бактериями (свыше 60% проб) и сальмонеллами (17% проб), что свидетельствует о недостаточной эффективности санитарной обработки отдельных участков производства птицепродуктов.

Частота выявления бактерий рода *Campylobacter* в образцах свинины, говядины и баранины зависела от вида сырья и термического состояния продукции. Наибольшее количество кампилобактеров было выделено из образцов охлажденной свинины – 20% (на уровне 100 – 150 КОЕ/г). Только 1 из 10 проб охлажденной баранины оказалась положительной по наличию кампилобактерий. В замороженных пробах полуфабрикатов из свинины и баранины

Campylobacter spp. отсутствовали. В образцах охлажденной и замороженной говядины, а также субпродуктов бактерии рода *Campylobacter* также не обнаруживались. Сальмонеллы обнаруживались в 4% (n=50) образцов сырых мясопродуктов, которые приходились на фаршевые полуфабрикаты свинины (13,3%).

Загрязненность проб сырого молока бактериями рода *Campylobacter* оценивали культуральным методом и с применением ПЦР в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Для постановки ПЦР использовали праймеры, детектирующие видоспецифическую последовательность *16s рРНК* для *C.jejuni*, наличие гена субъединицы В цитолетального токсина *cdtB*, а также родоспецифические праймеры.

При тестировании культуральным методом патоген был обнаружен в 8,3% исследованных проб. Частота обнаружения кампилобактеров в загрязненных пробах молока с применением ПЦР в реальном времени с родо- и видоспецифическими праймерами превышала аналогичный показатель при тестировании проб микробиологическим методом практически в 7,5 раз. Бактерии рода *Salmonella* были обнаружены в 2-х из 60 исследованных проб сырого молока, полученного из цистерн (3,33% от общего количества проб молока).

Проведены исследования характера загрязненности кампилобактерами производственной среды отечественных птицеперерабатывающих предприятий, применяющих погружной способ охлаждения тушек с добавлением технологического вспомогательного средства на основе надуксусной кислоты (более 30 проб - смывов с поверхностей оборудования и инвентаря). Предварительно была разработана модифицированная методика отбора проб, включающая комплексный анализ трех вариантов смывов в исследуемой зоне с применением трех видов жидких транспортных сред (бульон Престона с кровью, бульон для бруцелл, транспортная среда Кэри-Блер).

При анализе полученных результатов показана эффективность разработанной методики отбора проб. Частота выявления *Campylobacter* в смывах с использованием трех вариантов сред составляла 37,5%, количество положительных проб в каждой из сред различалось: в бульоне для бруцелл и в среде Кэри-Блера частота обнаружения кампилобактеров была примерно равной и составляла 18,7%, в бульоне Престона – 9,4%. В большинстве случаев выявленные положительные пробы не дублировались во всех использованных средах, их обнаружение носило мозаичный характер.

Campylobacter spp. были обнаружены на всех участках технологической цепочки переработки тушек бройлеров, при этом частота выявления штаммов *Campylobacter spp.* составляла 46,8%, бактерий рода *Salmonella* – 9,3%; наиболее часто кампилобактерии и сальмонеллы обнаруживали на начальных этапах технологического процесса (ошпаривание, удаление крови, потрошение, разделка). Частота выделения сальмонелл в цехах убоя составляла

20%, кампилобактерий – 60%. Распространенность кампилобактеров и сальмонелл имела тенденцию к снижению после процедуры погружного охлаждения и обеззараживания тушек птицы. Однако следует отметить, что сальмонеллы после охлаждения и антимикробной обработки тушек кур не обнаруживались, тогда как количество проб, содержащих *Campylobacter spp.,* уменьшилось незначительно. Это указывает на недостаточную эффективность в отношении кампилобактеров мер деконтаминации, традиционно применяемых для подавления сальмонелл, и требует дальнейшего подбора оптимальных способов технологической обработки, направленных на инактивацию возбудителей кампилобактериоза.

Частота выделения *Campylobacter spp.* на участках разделки полуфабрикатов и упаковки составляла суммарно 41,6%. Во всех исследованных пробах смывов с поверхностей инвентаря и столов патогенные микроорганизмы рода *Salmonella* отсутствовали.

По результатам биохимической идентификации 81,5% (88 из 108 штаммов) кампилобактерий, выделенных из пищевой продукции и объектов окружающей среды, принадлежали к виду *Campylobacter jejuni*.

Высокая частота обнаружения *C.jejuni* в смывах производственной среды свидетельствует об интенсивной циркуляции возбудителя пищевого кампилобактериоза на птицеперерабатывающих предприятиях. Технологические процессы, связанные с процедурой убоя, являются основными критическими точками контаминации тушек птиц, поскольку в наибольшей степени обеспечивают возможность перекрестного загрязнения поверхности сырой продукции патогенной микрофлорой.

Растущая устойчивость к противомикробным препаратам у *C.jejuni* представляет собой глобальную проблему здравоохранения.

Были изучены фенотипические профили антибиотикорезистентности 70 штаммов *C. jejuni*, выделенных из птицепродуктов и смывов с оборудования птицеперерабатывающих предприятий. Чувствительность штаммов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом. Анализ антибиотикограмм показал, что все выделенные штаммы были устойчивы к цефалотину, что соответствует признаку, характерному для вида *C.jejuni*. 95,6% и 98,6% культур оказались нечувствительными к препаратам группы фторхинолонов: налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину. Устойчивость к тетрациклину и доксициклину наблюдалась у большинства исследованных штаммов (84,3% и 81,4%, соответственно). Около 60,8% штаммов оказались резистентными к канамицину, 20,6% – к гентамицину и 18,4% – к амикацину. Процент штаммов *C.jejuni*, чувствительных к эритромицину, составил 77,6% (52 штамма) от общего числа выделенных культур. Наиболее активными в отношении кампилобактерий антибиотиками в группе линкозамидов оказался клиндамицин, в группе фениколов - хлорамфеникол. Доля штаммов, устойчивых к клиндамицину, составила 10,6 %, к хлорамфениколу - 10,3%. Около 24%

штаммов *C.jejuni* обладали мультирезистентностью к 4-5 антибиотикам, и такой же процент штаммов – к 8-9 антибиотикам. Для изолятов с множественной лекарственной устойчивостью наиболее распространенным типом устойчивости был CIP (ципрофлоксацин) – NAL (налидиксовая кислота) – TET (тетрациклин) – DO (доксициклин). Обнаружено 3 полирезистентных штамма, устойчивых ко всем 15 исследованным антибиотикам.

Широкая распространенность антибиотикорезистентных *C.jejuni*, выделенных из пищевых продуктов и смывов с оборудования птицеперерабатывающих предприятий, подчеркивает важность постоянного тестирования чувствительности бактерий к противомикробным препаратам для осуществления микробиологического мониторинга и оценки распространенности антибиотикорезистентности для рутинных диагностических и исследовательских целей.

Принимая во внимание высокие требования *Campylobacter spp.* к условиям роста, термофильность и присущую им чувствительность к стрессовым факторам, высокая выживаемость кампилобактеров в пищевой цепи остается парадоксом. Предполагается, что ключевым механизмом их персистенции в пищевой цепи является способность формировать биопленки и переходить в некультивируемое состояние.

Проведены исследования, направленные на изучение закономерностей перехода популяций *C. jejuni* в некультивируемые формы и формирования биопленок под воздействием стрессов.

В условиях *in vitro* изучали особенности формирования биопленок бактериями рода *Campylobacter* в моновидовых и смешанных популяциях с другими микроорганизмами – контаминантами животноводческого сырья и производственной среды перерабатывающих предприятий при воздействии различных стрессовых факторов. Методика исследования и основные результаты описаны в [12, 13]. Наиболее интенсивно процесс формирования моновидовых биопленок *C.jejuni* происходил в аэробных условиях при температуре 25ºС, в то время как в благоприятной для этих микроорганизмов микроаэрофильной газовой среде образование пленок было слабо выраженным, также как и в анаэробных условиях при выбранных температурных режимах (25ºС, 37ºС и 41,5ºС). Активное образование биопленки наблюдалось также в смешанных микробных популяциях *C.jejuni* с энтерококками и клебсиеллами в микроаэрофильных условиях.

В условиях, имитирующих процесс контактного охлаждения сырья погружным способом, показана общая закономерность снижения числа жизнеспособных клеток в процессе контаминации и последующего холодильного хранения зараженного продукта, вплоть до полного исчезновения культивируемых форм. Методика исследования и основные результаты описаны в [15]. По результатам ПЦР-анализа число обнаруживаемых клеток превосходило число

КОЕ в 5-10 раз, при этом наиболее четко эта разница проявлялась при исследовании поверхностно контаминированных продуктов; в 40% исследованных проб культуральный метод не позволял выявить присутствие возбудителя, тогда как количество некультивируемых форм достигало более высоких значений. Было показано также, что ПЦР-анализ является наиболее приемлемым методом выявления некультивируемых форм *C.jejuni*, обеспечивая возможность замены размножения бактерий амплификацией видоспецифического фрагмента ДНК.

Заключение

По результатам проведенных исследований установлено, что *C.jejuni* обладают способностью переходить в некультивируемое состояние и формировать биопленки под воздействием неблагоприятных условий внешней среды, что создаёт потенциальную опасность появления дополнительных источников инфицирования объектов. Учитывая способность кампилобактеров к персистированию на поверхностях оборудования и инвентаря, целесообразно рассматривать их в качестве индикаторов загрязнения патогенами производства птицепродуктов наряду с бактериями рода *Salmonella*, с включением в программы мониторинга и лабораторного контроля на птицеперерабатывающих предприятиях. При разработке отраслевых рекомендаций по санитарной обработке на предприятиях птицеперерабатывающей промышленности кампилобактеры должны использоваться в качестве тест-культур наравне с сальмонеллами, для оценки эффективности, расчета рабочих концентраций и времени экспозиции применяемых дезсредств.

Определены основные этапы производства птицепродуктов и контрольные критические точки, в которых необходимо проведение контроля на наличие термофильных кампилобактеров. Анализ смывов с поверхностей должен осуществляться на этапах убоя, ошпаривания, мойки и обработки на конвейере тушек, в ваннах контактного охлаждения, на участках изготовления полуфабрикатов, после охлаждения сырой продукции и в процессе ее упаковки.

Разработаны усовершенствованные методические подходы, позволяющие проводить ускоренную индикацию термофильных кампилобактеров в пищевой продукции и в смывах с объектов производственной среды с использованием комбинированных схем бактериологического и молекулярно-генетического анализа на основе подбора наиболее информативных биохимических и иммунологических тестов, и их генотипирования с применением ПЦР. Применение этих схем позволяет сократить время детекции на 3-4 суток в сравнении со стандартизованными методами анализа на наличие бактерий рода *Campylobacter*.

Предложены лабораторные методы, улучшающие выявляемость этих возбудителей, актуальны разработанные методические документы, ускоряющие процессы выделения кампилобактеров и оценку антибиотикорезистентности, что важно для эффективности

проведения производственного контроля и при санитарных обследованиях птице- и мясоперерабатывающих предприятий в контрольных критических точках.

Результаты проведенных исследований положены в основу разработанных и введенных в действие Методических указаний МУК 4.2.3545-18 «Методы ускоренного определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевой продукции и оценка их антибиотикорезистентности».

Проведенные исследования свидетельствуют о формировании нового риска в сфере микробиологической безопасности пищевых продуктов, а также о необходимости организации мониторинга и разработки основанного на оценке этого риска методического руководства по контролю возбудителя кампилобактериоза во всех критических точках цепи получения и переработки пищевой продукции «от фермы до потребителя». Меры по профилактике загрязнения кампилобактериями пищевых продуктов при их производстве и предотвращению перекрестной контаминации продукции возбудителем при последующей переработке, транспортировании, хранении, реализации должны стать частью общих мер, направленных на предотвращение инфицирования продукции возбудителями инфекционных болезней, и предусматривать следующее: строгое соблюдение технологий убоя птицы, первичной переработки, изготовления в соответствии с установленными требованиями; обеспечение поточности технологических процессов и раздельных зон для сырья и готовых продуктов; ограничение перемещений работников и оборудования между зонами переработки сырья, складских помещений и готовой продукции в помещениях и на территории пищевых объектов; исключение возможности загрязнения готовой продукции, в которой могут длительно выживать термофильные кампилобактерии, включая продукцию, упакованную в пленки под вакуумом и в модифицированной газовой атмосфере; своевременную эффективную санитарную обработку и дезинфекцию оборудования, инвентаря; соблюдение правил транспортировки и хранения пищевых продуктов (в первую очередь - обеспечение непрерывности холодовой цепи).

ЛИТЕРАТУРА

1. Doyle M. P., Erickson M. C. Emerging microbiological food safety issues related to meat //Meat Science. – 2006. – Vol. 74, No. 1. P. 98-112.

2. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) and EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (poultry) //EFSA Journal. – 2012. – Vol. 10, No. 6. P.2741.

3. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report //EFSA Journal. – 2021. – Vol. 19, No. 12. P.e06971.

4. Gherman I. et al. Risk of campylobacteriosis from low-throughput poultry slaughterhouses //assessment. – 2022.

5. Konkel M. E. et al. Taking control: *Campylobacter jejuni* binding to fibronectin sets the stage for cellular adherence and invasion //Frontiers in microbiology. – 2020. – Vol. 11. P. 564.

6. Lopes G. V. et al. Virulence factors of foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* //Microbial pathogenesis. – 2021. – Vol. 161. P.105265.

7. Nauta M. J., Sanaa M., Havelaar A. H. Risk based microbiological criteria for *Campylobacter* in broiler meat in the European Union //International Journal of Food Microbiology. – 2012. – Vol. 158, No.3. P.209-217.

8. Olsen A. et al. A comparison of European surveillance programs for Campylobacter in broilers //Food Control. – 2024. – Vol. 155, P.110059.

9. Pitkänen T., Hänninen M. L. Members of the family Campylobacteraceae: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* //Global Water Pathogens Project. – 2017.

10. Reich F., Klein G. Legal aspects and microbiological criteria for Campylobacter spp. in the food processing chain //Campylobacter. – Academic Press, 2017. P. 131-142.

11. World Health Organization (WHO) et al. WHO Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria. –2017.

12. Ефимочкина Н. Р. и др. Формирование биопленок пищевыми патогенами и разработка на их основе лабораторной модели *in vitro* для исследования бактерий рода *Campylobacter* //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162. – N 10. – С. 470-475.

13. Ефимочкина Н. Р., Стеценко В. В., Шевелева С. А. Изучение особенностей формирования биоплёнок бактериями рода *Campylobacter* в смешанных популяциях с другими микробными контаминантами пищевой продукции //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168. – N 7. – С. 72-75.

14. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. – С. 368.

15. Стеценко В. В., Ефимочкина Н. Р., Пичугина Т. В. Особенности роста и персистенции *Campylobacter jejuni* в пищевых продуктах //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166. – N 12. – С. 723-730.

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19, ПРОХОДЯЩИХ ЛЕЧЕНИЕ В ОРИТ

Д.А. Стрелкова[1], В.Г. Кулешов[2], А.Е. Власенко[3], М.А. Тетевина[1]

[1]Кафедра госпитальной терапии №2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

[2]ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ»

[3]ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Введение

Инфекции кровотока (ИК) наряду с нозокомиальной пневмонией и инфекциями мочевыводящих путей являются наиболее распространенными инфекционными осложнениями COVID-19 [1]. Согласно метаанализу, ИК развивались у 7,3% госпитализированных пациентов с COVID-19, и у 29,6% проходивших лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [2]. ИК при COVID-19 ассоциированы с более высокой частотой интубации, увеличением срока пребывания в ОРИТ и более высокой летальностью [3, 4]. Факторы риска ИК при COVID-19 варьировали в разных исследованиях и требуют дальнейшего изучения.

Целью данного исследования было выявить факторы риска нозокомиальных ИК при COVID-19 у пациентов, проходящих лечение в ОРИТ и разработать модель для прогнозирования их развития.

Материалы и методы

В ретроспективное исследование случай-контроль были включены взрослые пациенты с подтвержденной ПЦР COVID-19, проходившие лечение в трех ОРИТ городской больницы в периоды с 14 мая 2021 г. по 30 июля 2021 г. и с 1 октября 2021 г. по 2 марта 2022 г.

Критерии включения пациентов в группу ИК: госпитализация или перевод в ОРИТ, наличие посева крови, соответствующего критериям истинной бактериемии или фунгемии. Контрольная группа была сформирована случайным образом 1:1 к группе ИК из пациентов, проходивших лечение в ОРИТ, у которых ИК зафиксировано не было.

Образцы крови мониторировали с помощью автоматизированной системы посева крови (BACTEC FX; Becton Dickinson, США), а положительные флаконы культивировали на агаре с овечьей кровью (OXOID, Великобритания) и агаре UriSelect (Bio-Rad, Франция) и инкубировали в течение 24 часов при 35°C. Для идентификации выделенных микроорганизмов использовали автоматизированную систему Phoenix 100 (Becton Dickinson, США). Тестирование чувствительности к антибиотикам проводилось с использованием рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2021-01.

У пациентов регистрировались следующие данные: пол, возраст, исходы госпитализации, наличие предыдущей госпитализации за последние 2 недели, число и характер возбудителей ИК с определением чувствительности к антимикробным препаратам, число эпизодов ИК, выявление того же возбудителя в других локусах, сроки заболевания, сопутствующие заболевания с определением индекса коморбидности Чарлсона, инвазивные процедуры, иммуносупрессивная терапия, объем поражения по КТ органов грудной клетки при госпитализации, переводе в ОРИТ и выявлении ИК, степень тяжести дыхательной недостаточности, лабораторные маркеры при поступлении, переводе в ОРИТ и выявлении ИК.

Количественные переменные были представлены как медианы и межквартильный размах или среднее со стандартным отклонением, категориальные переменные в виде абсолютных чисел и долей с 95% ДИ. Для оценки нормальности распределения использовали тест Шапиро-Уилка. U-критерий Манна-Уитни, t-критерий Стьюдента, критерий хи-квадрат и критерий Фишера использовались для сравнения показателей в различных группах исследования.

Для оценки прогностической значимости количественных признаков применялся метод анализа ROC-кривых, точку оптимального разделения групп находили по критерию Юдена (J-индекс). Приводится значение площади под ROC-кривой (AUC) и её 95% ДИ, значимость отличия площади от 0,5 проводили по z-критерию.

Чтобы оценить влияние конкурирующих факторов риска, были определены три конечные точки: выживание, смерть до развития ИК и развитие ИК. Расчёт кумулятивной функции риска развития ИК и расчёт критерия Файна и Грея применялись для оценки влияния отдельных факторов риска. Для расчёта отношения рисков и 95% ДИ применялась однофакторная модель конкурирующих рисков Файна и Грея. Для получения согласованных оценок и построения прогнозирующей модели применялась многофакторная модель конкурирующих рисков Файна и Грея.

Оценка качества построенной модели проводилась с помощью построения ROC-кривых, зависимых от времени и оценки площади под этими кривыми (AUC). Точка оптимального разделения рассчитанного риска определялась с помощью функции surv_cutpoint пакета survminer статистической среды R. Номограмма для разработанной модели рассчитывалась с помощью пакета QHScrnomo.

Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Все расчеты проводились в статистической среде R (v.3.6).

Результаты

Общая характеристика популяции исследования

В исследование было включено 470 пациентов, 236 пациентов с ИК, 234 пациента в контрольной группе. Процесс формирования групп пациентов представлен на Рисунке 1.

Рисунок 1. Процесс формирования групп исследования

ИК развивались у 23,6% пациентов. Пациенты группы ИК и контрольной группы были сопоставимы по возрасту, 73 (65; 81) и 74 (63; 82,8), p=0,55, индексу коморбидности Чарлсона, 4 (3; 6) и 5 (3; 6), p=0,34, и доле мужчин, 88 (37,3%) против 88 (37,6%), p=1,00. Четверть пациентов были госпитализированы непосредственно в ОРИТ, а у 23,6% пациентов была предшествующая госпитализация в течение последних двух недель. Медиана времени развития ИК составила 6 (2; 9) суток после поступления в ОРИТ и 9 (6; 13) суток после госпитализации. Летальность составила 74,9%, в том числе 85,6% в группе ИК против 64,1% в контрольной группе (p<0,001).

У 236 пациентов с ИК было получено 288 изолятов микроорганизмов. Преобладали грамотрицательные бактерии, наиболее часто встречались *A. baumannii* и *K. pneumoniae* – структура возбудителей представлена на Рисунке 2. К карбапенемам были устойчивы 98% изолятов *A. baumannii* и 80% изолятов *K. Pneumoniae*. 7% изолятов *S.aureus* были метициллинрезистентными.

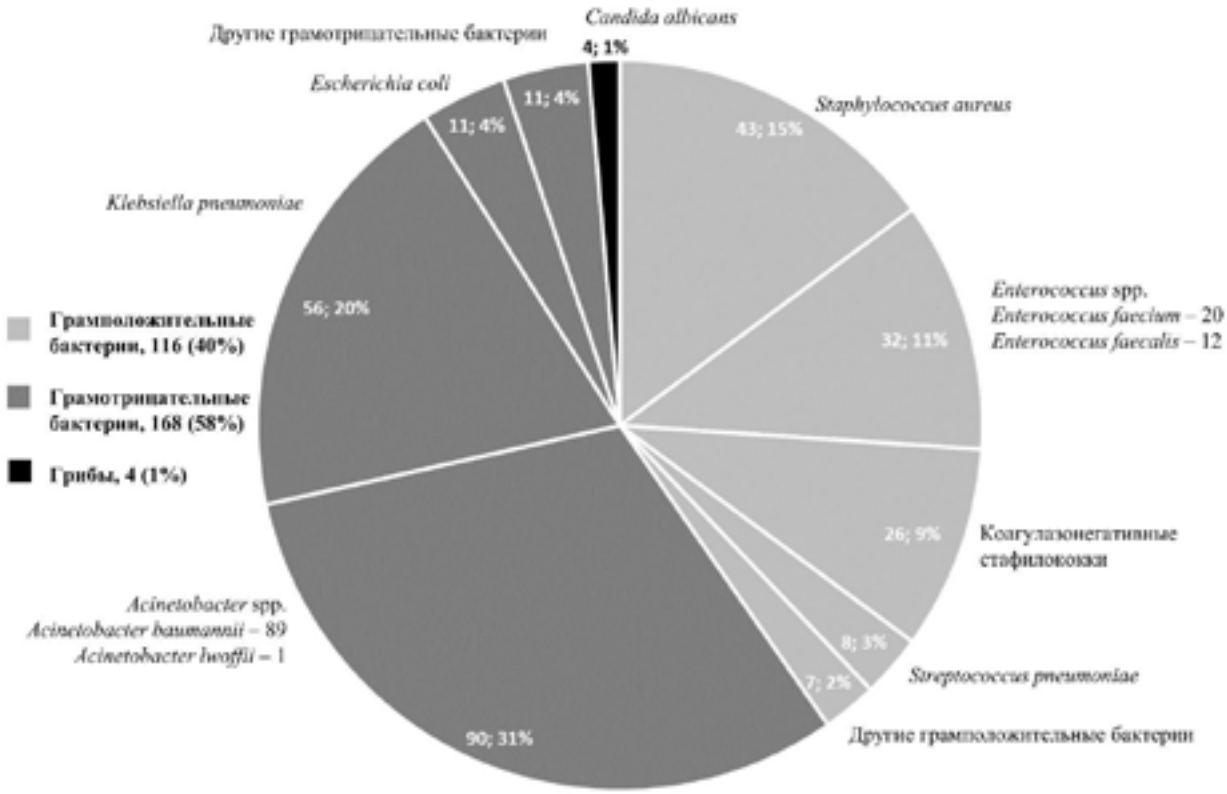


Рисунок 2. Спектр возбудителей ИК

Анализ показал, что у пациентов с ИК чаще отмечалось применение дексаметазона и иммунобиологической терапии во время предыдущей госпитализации, более высокий уровень Д-димера и глюкозы, более низкий уровень лимфоцитов в первые 48 часов в ОРИТ, сахарный диабет и НПО по сравнению с ВПО или НИВЛ в первые 48 часов в ОРИТ. Критическая ишемия конечностей и деменция чаще встречались у пациентов без ИК.

Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на две группы: госпитализированные непосредственно в ОРИТ и переведенные в ОРИТ. Основаниями для разделения на подгруппы послужили разная частота возникновения ИК, а также более длительное пребывание в стационаре и более частое применение иммуносупрессивных препаратов и антибиотиков до поступления в ОРИТ во второй группе, что могло повлиять на риск развития ИК.

Пациенты, госпитализированные непосредственно в ОРИТ

В группу пациентов, госпитализированных непосредственно в ОРИТ, вошли 115 пациентов. У пациентов с COVID-19 и ИК чаще применяли дексаметазон и иммунобиологическую терапию в предыдущую госпитализацию, уровни глюкозы, Д-димера и креатинина были выше, а уровень прокальцитонина более 2 нг/мл встречался чаще – параметры, по которым выборки отличались, представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Однофакторный анализ потенциальных факторов риска развития ИК у пациентов с COVID-19, госпитализированных непосредственно в ОРИТ

Параметры	Группа ИК, N=48	Контрольная группа, N=67	p
Дексаметазон в предыдущую госпитализацию	10 (20,8[10,5-35]%)	-	<0,001
Иммунобиологическая терапия в предыдущую госпитализацию	7 (14,6[6,1-27,8]%)	-	0,002
Прокальцитонин, >2 нг/мл	9 (18,8 [8,9-32,6] %)	4 (4,5 [0,9-12,5] %)	0,033
Глюкоза, ммоль/л	9 (7,1; 13)	7,3 (6,5; 8,8)	0,009
Креатинин, μмоль/л	110,1 (82,1; 172,3)	84 (58; 141,2)	0,010
СКФ, CKD-EPI, мл/мин/1,73 м^2	46,3 (26,3; 71,7)	61,1 (35,8; 92,8)	0,013
Д-димер, нг/мл	700 (391,5; 2238,2)	592 (209; 1321,5)	0,016

Для дальнейшего анализа количественные переменные были дихотомизированы (было указано положение показателя относительно некоторого порогового значения). Пороговые значения для Д-димера и скорости клубочковой фильтрации были определены согласно границам нормы. Для глюкозы и креатинина был определён пороговый уровень, ассоциированный с развитием ИК с помощью анализа специфичности и чувствительности для всех возможных точек отсечения (ROC-анализ) и расчёта индекса Юдена. Этими точками отсечения оказались уровень глюкозы выше 9 ммоль/л и уровень креатинина выше 75 мкмоль/л.

У пациентов с COVID-19, госпитализированных непосредственно в ОРИТ, применение иммунобиологической терапии в предыдущую госпитализацию увеличивало риск развития ИК в 6,1 раз (HR = 6,1 [95%ДИ: 2,0-18,5]), скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73м^2 – в 4 раза (HR = 4,0 [95%ДИ: 2,1-7,6]), применение дексаметазона в предыдущую госпитализацию в 3 раза (HR = 3,0[95%ДИ: 1,3-7,1]), глюкоза выше 9 ммоль/л – в 2,5 раза (HR = 2,5 [95%ДИ: 1,4 – 4,6]).

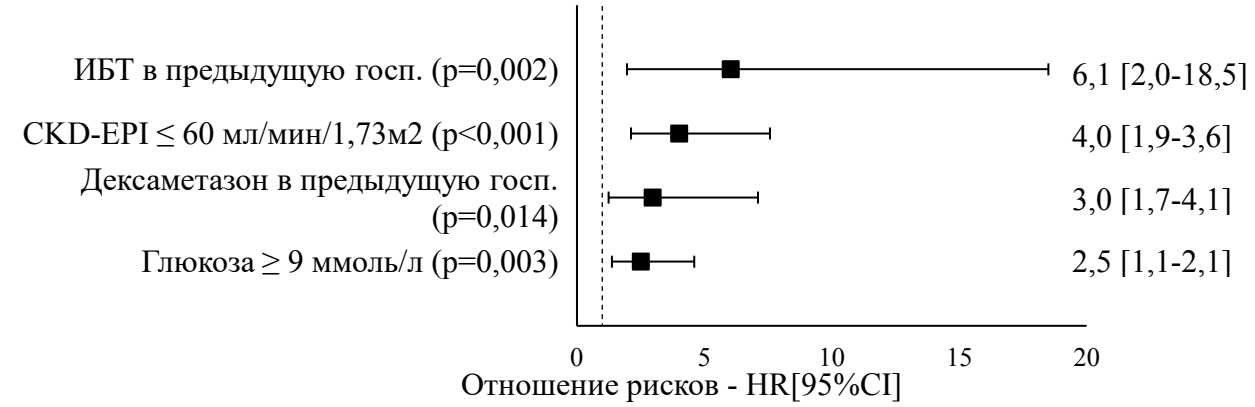


Рисунок 3. Скорректированные оценки влияния рассматриваемых показателей на риск развития ИК

Пациенты, переведенные в ОРИТ

Исходная выборка пациентов с COVID-19, переведенных в ОРИТ, была случайным образом разделена на обучающую (N=320) и тестовую (N=35). Анализ факторов риска и

построение прогностической модели проводились на обучающей выборке, качество модели проверялось как на обучающей, так и на тестовой выборках.

У пациентов с ИК, по сравнению с пациентами без таковых, кумулятивная доза дексаметазона до перевода в ОРИТ, уровни аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и общего белка при поступлении в стационар были выше, уровень лимфоцитов в первые 48 часов в ОРИТ был ниже, а прирост уровня Д-димера с момента поступления до перевода в ОРИТ был выше. У пациентов с ИК чаще наблюдался сахарный диабет и им чаще назначали дексаметазон при предыдущей госпитализации, но у них реже встречались деменция и критическая ишемия нижних конечностей. Кроме того, у пациентов с ИК чаще проводилась НПО по сравнению с ВПО, НИВЛ и ИВЛ в первые 48 часов в ОРИТ. Показатели, по которым выборки различались, представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Однофакторный анализ потенциальных факторов риска развития ИК у пациентов с COVID-19, переведенных в ОРИТ

Параметры	**Группа ИК, N=170**	**Контрольная группа, N=150**	**p**
Дексаметазон в предыдущую госпитализацию	6 (3,5[1,3-7,5]%)	-	0,032
Сахарный диабет	67 (39,4[32-47,2]%)	43 (28,7[21,6-36,6]%)	0,043
Деменция	22 (12,9[8,3-18,9]%)	36 (24[17,4-31,6]%)	0,01
Критическая ишемия нижних конечностей	4 (2,4[0,6-5,9]%)	11 (7,3[3,7-12,7]%)	0,035
Респираторная поддержка в первые 48 часов пребывания в ОРИТ			
Отсутствовала	-	1 (0,7[0-3,7]%)	<0,001
НПО	88 (51,8[44-59,5]%)	25 (16,7[11,1-23,6]%)	
ВПО и НИВЛ	25 (14,7[9,7-20,9]%)	51 (34[26,5-42,2]%)	
ИВЛ	48 (28,2[21,6-35,6]%)	42 (28[21-35,9]%)	
Лабораторные данные при госпитализации			
АЛТ, ед/л	44 (29,3; 58,8)	37 (24; 51)	0,009
АСТ, ед/л	48 (33,5; 67)	41 (32,3; 53)	0,047
Общий белок, г/л	68,7±6,6	66,6±6,8	0,007
Лабораторные данные в первые 48 часов пребывания в ОРИТ			
Лимфоциты, $x10^9$/л	0,88 (0,6; 1,54)	1,1 (0,7; 2,05)	0,019
Д-димер, прирост уровня от поступления до перевода в ОРИТ, %	80,9 (-5,24; 347,21)	27,37 (-11,69; 155,53)	0,029

Для дальнейшего анализа количественные переменные были дихотомизированы. Пороговое значение лимфоцитов при переводе было определены согласно референсным значениям лаборатории. Для кумулятивной дозы дексаметазона, уровня АЛТ, АСТ, общего белка и процента прироста Д-димера был определён пороговый уровень, ассоциированный с развитием ИК. Было выяснено, что у пациентов с COVID-19, переведенных в ОРИТ, с развитием ИК ассоциирована кумулятивная доза дексаметазона до перевода в ОРИТ более 30 мг, уровень АЛТ при поступлении выше 35,5 ЕД/л, АСТ выше 52 ЕД/л, общий белок выше 67,7 г/л, процентный прирост Д-димера при переводе относительно значений при поступлении выше 75%.

Следующий этап исследования заключался в построении прогностической модели. Из исходных 320 пациентов были удалены 14 пациентов, имеющие пропуски в данных, таким образом, объем выборки для построения модели составил 306 пациентов (163 с ИК, 143 без).

В результате была получена следующая модель:

$$hi(t) = h0(t) * exp(0{,}005*X_{ДЕК\_СУМ} + 1{,}5*X_{ДЕК\_РАНЕЕ} + 0{,}36* X_{ДИАБЕТ} - 1{,}13* X_{НИВЛ} - 1{,}7* X_{ИВЛ} + 0{,}43*X_{АЛТ}))$$

где $h_i(t)$ – риск развития ИК у пациента с COVID-19, переведенного в ОРИТ (в долях от 1), $h_0(t)$ – базовый риск развития ИК при нулевом значении предикторов (в долях от 1), $X_{ДЕК\_СУМ}$ – суммарная доза дексаметазона после госпитализации до перевода в ОРИТ (мл.), $X_{ДЕК\_РАНЕЕ}$ – дексаметазон в предыдущую госпитализацию (0 – нет, 1 –да), $X_{ДИАБЕТ}$ – сахарный диабет (0 – нет, 1 –да), $X_{НИВЛ}$ – максимальная респираторная поддержка в первые 48 часов ОРИТ – НИВЛ или ВПО (0 – нет, 1 –да), $X_{ИВЛ}$ – максимальная респираторная поддержка в первые 48 часов ОРИТ – ИВЛ (0 – нет, 1 –да), $X_{АЛТ}$ – уровень АЛТ при госпитализации выше 35,5 ЕД/л (0 – нет, 1 – да).

Значения базового риска развития ИК составили 0,16, 0,33, 0,54 и 0,59 для 2 дней, 6 дней, 14 дней и 20 дней пребывания в ОРИТ, соответственно. Характеристики предикторов модели представлена на Рисунке 4.

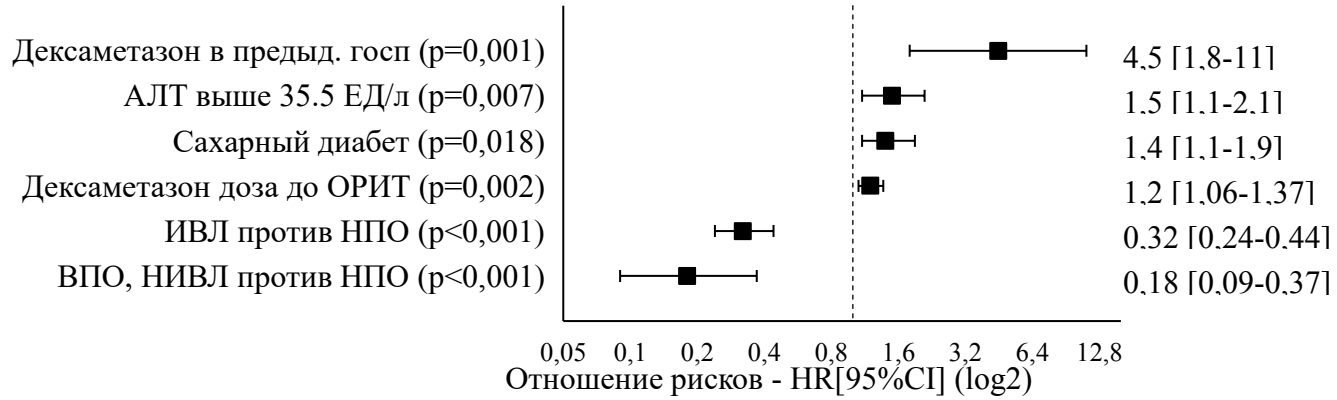


Рисунок 4. Скорректированные с помощью многофакторнго моделирования оценки влияния рассматриваемых показателей на риск развития ИК

Примечание: Суммарная доза дексаметозона до перевода в ОРИТ, HR представлено для увелечения суммарной дозы на каждые 30 мг

Оценка качества разработанной модели проводилась как на обучающем, так и на тестовом множестве. Площадь под ROC кривой (AUC) для временных точек 2 дня, 6 дней, 14 дней и 20 дней составила, соответственно для обучающей и тестовой выборки: 0,71 (95% ДИ 0,63-0,78) и 0,71 (95% ДИ 0,30-1,00), 0,73 (95% ДИ 0,66-0,79) и 0,77 (95% ДИ 0,58-1,00), 0,78 (95% ДИ 0,72-0,84) и 0,78 (95% ДИ 0,61-0,93), 0,80 (95% ДИ 0,75-0,85) и 0,78 (95% ДИ 0,66-0,90).

Разработанная модель также может быть представлена в виде номограммы – Рисунок 5.

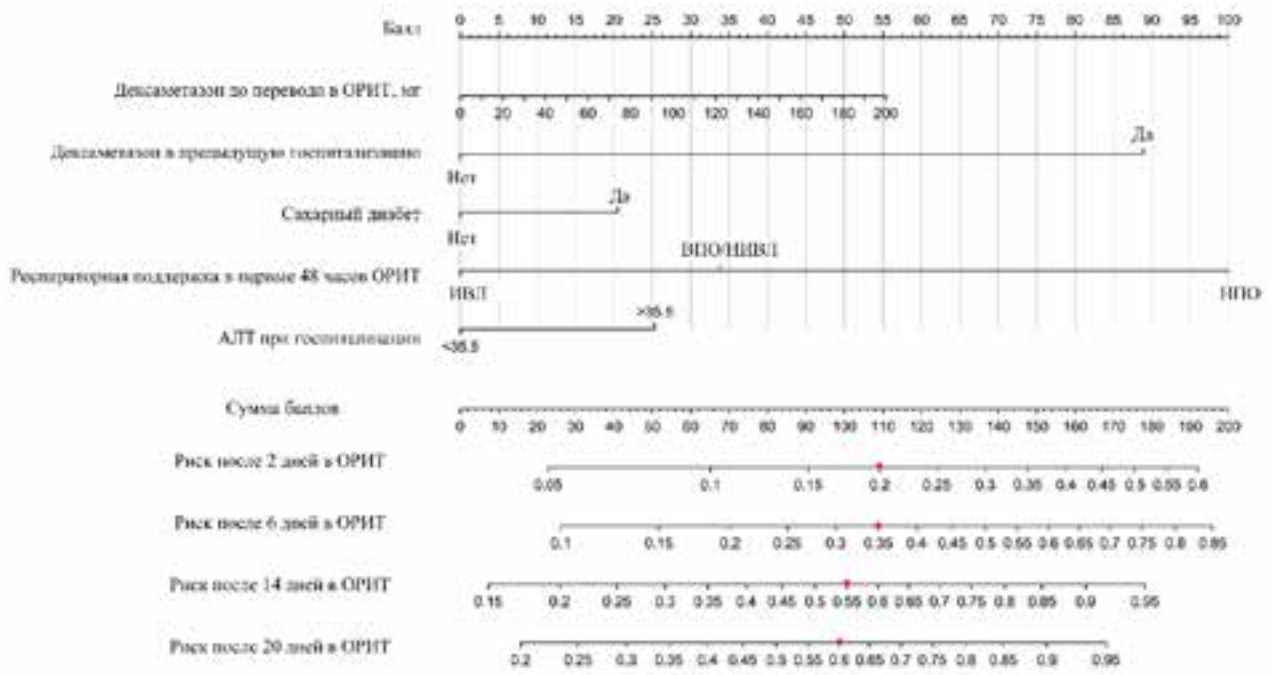


Рисунок 5. Номограмма риска развития ИК (в различные сроки пребывания в ОРИТ) у пациентов с COVID-19, переведенных в ОРИТ

Обсуждение

В данном исследовании «случай-контроль» среди пациентов с COVID-19, проходящих лечение в ОРИТ, изучались факторы риска развития ИК с целью построения модели, прогнозирующей это осложнение.

Изучению факторов риска ИК при COVID-19 посвящено небольшое количество исследований. Дискуссионной является роль иммуносупрессивной терапии. Некоторый исследования показали, что глюкокортикостероиды [5, 6] и ингибиторы интерлейкина (в основном тоцилизумаб и анакинра) [7] связаны с повышенным риском ИК, в других исследованиях это описано при комбинированной терапии данными агентами [8, 9]. Некоторые исследователи не обнаружили связи между проведением иммуносупрессивной терапии и развитием ИК при COVID-19 [3, 10, 11]. Пациенты в нашем исследовании получали большую суточную дозу дексаметазона, чем в большинстве литературных источников, а также им чаще проводилась терапия ингибиторами интерлейкина. Факторами риска выступили прием иммуносупрессантов в предыдущую госпитализацию и большая доза дексаметазона, полученная до перевода в ОРИТ. Это подтверждает, что с продлением иммуносупрессивной терапии, риск осложнений увеличивается. Также 28% пациентов имели нормальную SpO_2 при госпитализации, и у этих пациентов раннего назначения дексаметазона можно было избежать.

Было установлено, что повышенный уровень глюкозы в крови (у пациентов, поступивших непосредственно в ОРИТ) и сахарный диабет (у больных, переведенных в ОРИТ) были

факторами риска развития ИК. Другие лабораторные параметры включали более низкую СКФ и повышенный уровень АЛТ. Все эти параметры связаны с плохим прогнозом при COVID-19 [12, 13]. Кроме того, у пациентов сахарным диабетом и хронической болезнью почек риск развития нозокомиальных ИК был выше в целом и до COVID-19 [14, 15].

Неожиданным стало то, что более интенсивная респираторная поддержка в течение первых 48 часов пребывания в ОРИТ была протективной по отношению к ИК. Напротив, Cona и соавт. писали, что проведение НИВЛ и ИВЛ были независимыми факторами риска ИК у пациентов с COVID-19 [5]. В этом исследовании фиксировались максимальная респираторная поддержка за период лечения, и эскалация респираторной поддержки могла произойти как до, так и после развития ИК, что не позволяет дифференцировать фактор риска и следствие. Мы предполагаем, что в нашем исследовании, в связи с нехваткой ресурсов, не тяжесть дыхательной недостаточности, а более раннее начало необходимых ВПО и НИВЛ могло быть протективным для развития ИК.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Moreno-Torres V, de Mendoza C, de la Fuente S, Sánchez E, Martínez-Urbistondo M, Herráiz J, et al. Bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19. Intern Emerg Med. 2022;17(2):431-438. doi: 10.1007/s11739-021-02824-7.

[2] Ippolito M, Simone B, Filisina C, Catalanotto FR, Catalisano G, Marino C, et al. Bloodstream Infections in Hospitalized Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. Microorganisms. 2021;9(10):2016. doi: 10.3390/microorganisms9102016.

[3] Bonazzetti C, Rinaldi M, Giacomelli A, Colombo R, Ottolina D, Rimoldi SG, et al. Risk factors associated with bacteremia in COVID-19 patients admitted to intensive care unit: a retrospective multicenter cohort study. Infection. 2023;51(1):129-136. doi: 10.1007/s15010-022-01853-4.

[4] Patton MJ, Orihuela CJ, Harrod KS, Bhuiyan MAN, Dominic P, Kevil CG, et al. COVID-19 bacteremic co-infection is a major risk factor for mortality, ICU admission, and mechanical ventilation. Crit Care. 2023;27(1). doi:10.1186/S13054-023-04312-0

[5] Cona A, Tavelli A, Renzelli A, Varisco B, Bai F, Tesoro D, et al. Incidence, Risk Factors and Impact on Clinical Outcomes of Bloodstream Infections in Patients Hospitalised with COVID-19: A Prospective Cohort Study. Antibiotics (Basel). 2021;10(9):1031. doi: 10.3390/antibiotics10091031.

[6] Nakagawara K, Kamata H, Chubachi S, Namkoong H, Tanaka H, Lee H, et al. Diagnostic significance of secondary bacteremia in patients with COVID-19. J Infect Chemother. 2023;29(4):422-426. doi: 10.1016/j.jiac.2023.01.006.

[7] Buetti N, Ruckly S, de Montmollin E, Reignier J, Terzi N, Cohen Y, et al. COVID-19 increased the risk of ICU-acquired bloodstream infections: a case-cohort study from the multicentric

OUTCOMEREA network. Intensive Care Med. 2021;47(2):180-187. doi: 10.1007/s00134-021-06346-w.

[8] Kurt AF, Mete B, Urkmez S, Demirkiran O, Dumanli GY, Bozbay S, et al. Incidence, Risk Factors, and Prognosis of Bloodstream Infections in COVID-19 Patients in Intensive Care: A Single-Center Observational Study. J Intensive Care Med. 2022;37(10):1353-1362. doi:10.1177/08850666221103495.

[9] Khatri A, Malhotra P, Izard S, Kim A, Oppenheim M, Gautam-Goyal P, et al. Hospital-Acquired Bloodstream Infections in Patients Hospitalized With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection (Coronavirus Disease 2019): Association With Immunosuppressive Therapies. Open Forum Infect Dis. 2021;8(7):ofab339. doi: 10.1093/ofid/ofab339.

[10] Abelenda-Alonso G, Rombauts A, Gudiol C, Oriol I, Simonetti A, Coloma A, et al. Immunomodulatory therapy, risk factors and outcomes of hospital-acquired bloodstream infection in patients with severe COVID-19 pneumonia: a Spanish case-control matched multicentre study (BACTCOVID). Clin Microbiol Infect. 2021;27(11):1685-1692. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.041.

[11] Kuwahara M, Kamigaito M, Nitta S, Hasegawa K, Murakami H, Kobayashi T, et al. Effect of Tocilizumab Treatment on Patients with Coronavirus Disease 2019 and Bacteremia: A Retrospective Cohort Study. Infect Dis Ther. 2022;11(1):533-541. doi: 10.1007/s40121-022-00592-1.

[12] Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. BMJ Evid Based Med. 2021;26(3):107-108. doi: 10.1136/bmjebm-2020-111536.

[13] Chen J, Wu C, Wang X, Yu J, Sun Z. The Impact of COVID-19 on Blood Glucose: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Endocrinol (Lausanne). 2020;11:574541. doi: 10.3389/fendo.2020.574541.

[14] Michalia M, Kompoti M, Koutsikou A, Paridou A, Giannopoulou P, Trikka-Graphakos E, et al. Diabetes mellitus is an independent risk factor for ICU-acquired bloodstream infections. Intensive Care Med. 2009;35(3):448-54. doi: 10.1007/s00134-008-1288-0.

[15] James MT, Laupland KB, Tonelli M, Manns BJ, Culleton BF, Hemmelgarn BR, et al. Risk of bloodstream infection in patients with chronic kidney disease not treated with dialysis. Arch Intern Med. 2008;168(21):2333-9. doi: 10.1001/archinte.168.21.

СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ИЗМЕНЕНИЯ ЛИКВОРА У ПАЦИЕНТОВ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ МЕНИНГИТАМИ

О.О. Чернышева, М.С. Потемкина, М.М. Гаджикулиева, И.В. Давыдова

Введение. Бактериальный менингит характеризуется острой манифестацией, высокими показателями заболеваемости и смертности, а также возможным развитием вспышек заболевания [1]. Этиологическая структура менингита крайне разнообразна и характеризуется высокой динамичностью в различные временные периоды. За последние 25-30 лет на изменение спектра возбудителей менингитов оказало влияние использование конъюгированных вакцин [2-4], широкое применение антибактериальной терапии [5]. Однако, несмотря на развитие методов специфической терапии, у пациентов с бактериальным менингитом сохраняется высокий риск развития ряда осложнений, способных привести к инвалидизирующим последствиям или летальному исходу [6]. Своевременная верификация возбудителя и оценка тяжести состояния обуславливают назначение адекватной терапии, минимизируют риски развития осложнений и неблагоприятного исхода.

Цель. Оценка этиологической структуры и показателей ликвора у пациентов с бактериальным менингитом, госпитализированных в отделение нейроинфекций ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ за 2022-2023 гг.

Материалы и методы. Выполнен ретроспективный анализ материалов историй болезней пациентов в возрасте старше 18 лет с лабораторно подтвержденным бактериальным менингитом, госпитализированных в отделение нейроинфекций ИКБ№2 за 2022-2023 гг. Из исследования были исключены пациенты с врожденным или приобретенным иммунным дефицитом. Анализ данных осуществлялся посредством проектирования сценария с кластеризацией по алгоритму k-means, построением OLAP-кубов в аналитической программе Loginom. В качестве характеристик при кластеризации использовались средние показатели (Me) спинномозговой жидкости (СМЖ), полученной при поступлении: цитоз (клеток/мл), нейтрофилы (%), лимфоциты (%), моноциты (%), белок (г/л), глюкоза (мМоль/л), хлориды (мМоль/л), лактат (мМоль/л), D-димер (нг/мл). Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием Loginom 7.1.5 и MSExcel 2019. При оценке статистической значимости использовался критерий Мана-Уитли и критерий Краскера-Уоллиса. Достоверными считали результаты критериев, соответствующие значениям $p<0,01$ и $p<0,05$.

Результаты. Проанализированы материалы историй болезни 110 пациентов в возрасте от 18 до 89 лет (средний возраст 39,5 (±14,5) лет), из них 61,8% (n=68) мужчины, 38,2% (n=42) – женщины. У 80% (n=88) пациентов наблюдалось тяжелое течение заболевания, у 20% (n=22) – средней степени тяжести.

I Анализ спектра возбудителей бактериальных менингитов

При анализе этиологической структуры было выявлено, что в 68,2% (n=75) случаев менингит был вызван *Neisseria Meningitidis*, у 8,2% (n=9) пациентов идентифицирован *Streptococcus pneumoniae*, в 5,5% (n=6) была выявлена *Listeria monocytogenes*, в 4,5% (n=5) – *Staphylococcus aureus*. Случаи менингитов, вызванных *Acinetobacter baumannii, Enterococcus faecium, Escherihia Coli, Klebsiella pneumonia* и *Streptococcus группы B,* составляли всего 5,5%. На долю менингита, ассоциированного со смешанной микрофлорой (*Streptococcus группы G* и *Listeria Monocytogenes*) приходилось 0,9% (n=1). В 8,2% (n=9) случаев возбудитель не идентифицирован. В группе пациентов с менингококковым менингитом *N. Meningitidis серогруппы A* была выявлена у 49,3% (n=37) пациентов, *N. Meningitidis серогруппы B* у 4% (n=3) и *N. Meningitidis серогруппы W135* у 33,3% (n=25) госпитализированных. В 13,4% (n=10) сероварианта *N. Meningitidis* не был идентифицирован (рис. 1).

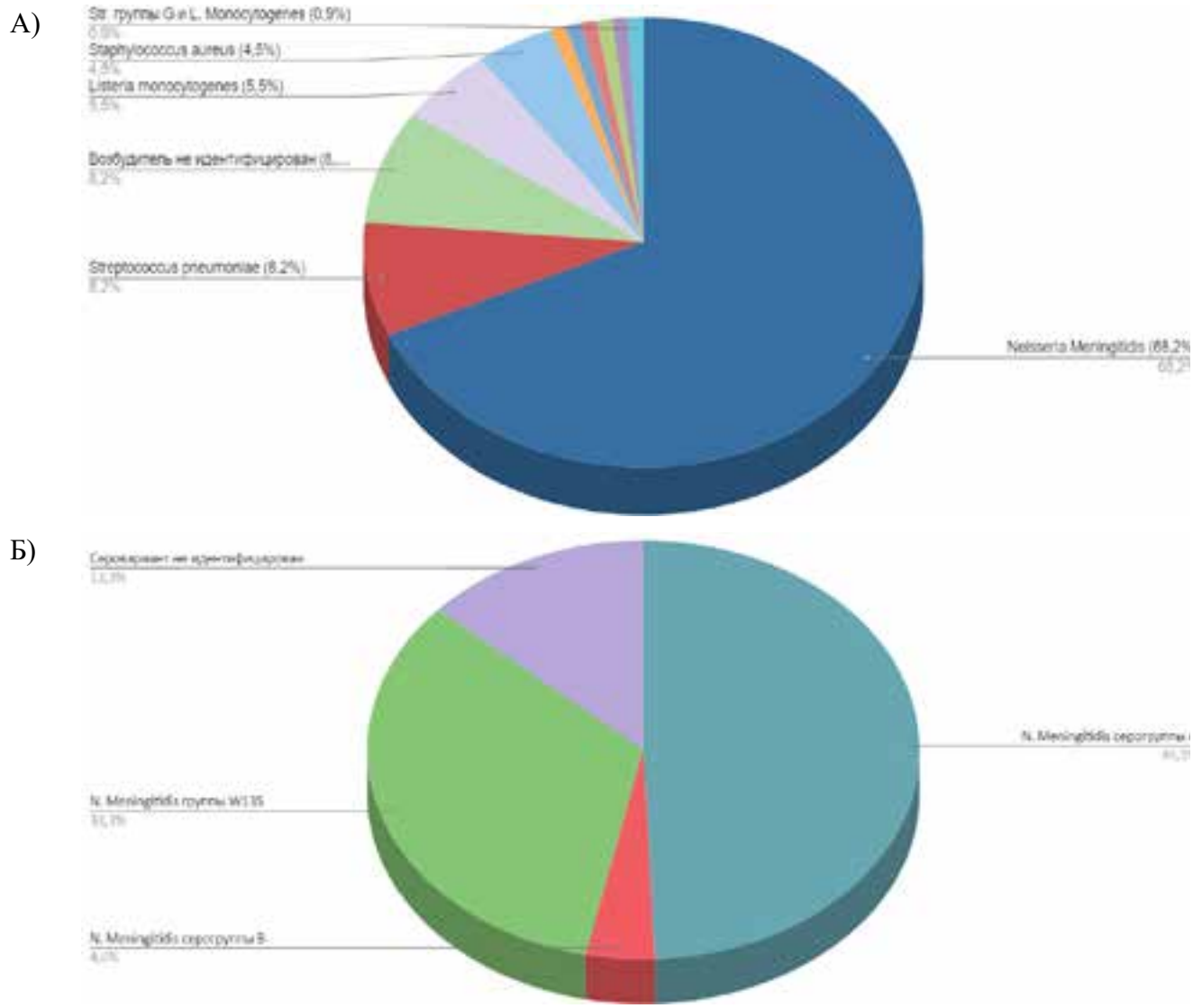


Рис. 1. Спектр возбудителей менингитов (А – этиологическая структура всей когорты пациентов; Б – Серогруппы *N. Meningitidis* у пациентов с менингококковым менингитом)

II Анализ возрастных показателей, тяжести течения и изменений в ликворе у пациентов с бактериальными менингитами в зависимости от возбудителя

Пациенты с менингококковым менингитом. В группе пациентов с *N. Meningitidis серогруппы А* средний возраст составил 31 лет (±10 лет, от 18 до 68 лет). В 81% (n=30) случаев наблюдалось тяжелое течение заболевания, в 19% (n=3) – средней степени тяжести. По усредненным показателям ликвора: цитоз 6826 клеток/мл, нейтрофилы 98%, лимфоциты 1%, моноциты 1%, белок 5,57 г/л, глюкоза 0,05 мМоль/л, хлориды 114 мМоль/л, лактат 14,58 мМоль/л, D-димер 3140 нг/мл. В случае *N. Meningitidis серогруппы В* средний возраст составил 69 (±3 лет, от 22 до 72 лет) лет, у всех пациентов наблюдалось тяжелое течение заболевания. Ввиду малого числа пациентов в данной группе оценка изменений ликвора не проводилась. В группе пациентов с менингитом, вызванным *N. Meningitidis серогруппы W135*, средний возраст составил 31 год (±6 лет, от 19 до 89 лет). У 16% (n=4) пациентов этой группы наблюдалась среднетяжелая форма болезни, у 84% (n=21) – тяжелое течение с летальным исходом в 1 случае. При анализе показателей ликвора: цитоз 4522 клеток/мл, нейтрофилы 98%, лимфоциты 2%, моноциты 0%, белок 3,61 г/л, глюкоза 1,2 мМоль/л, хлориды 116,8 мМоль/л, лактат 14,95 мМоль/л, D-димер 2680 нг/мл. Среди пациентов с неидентифицированным типом *N. Meningitidis* средний возраст составил 45 лет (±12 лет, от 21 до 65 лет). Тяжелое течение менингококковой инфекции было выявлено у 80% (n=8) пациентов, средней степени тяжести - у 20% (n=2). По показателям ликвора: цитоз 4003 клеток/мл, нейтрофилы 98%, лимфоциты 1,5%, моноциты 0%, белок 4,3 г/л, глюкоза 2,8 мМоль/л, хлориды 118,5 мМоль/л, лактат 12,4 мМоль/л, D-димер 2215 нг/мл.

Пациенты с менингитом, вызванным *Streptococcus pneumoniae.* В группе пациентов с пневмококковым менингитом средний возраст составил 56 лет (±13 лет, от 23 до 72 лет). У 88,9% (n=8) пациентов наблюдалось тяжелое течение заболевания, у 11,1% (n=1) – средняя степень тяжести. По показателям ликвора: цитоз 4080 клеток/мл, нейтрофилы 97%, лимфоциты 3%, моноциты 0%, белок 4,45 г/л, глюкоза 0,44 мМоль/л, хлориды 114 мМоль/л, лактат 14,7 мМоль/л, D-димер 4440 нг/мл.

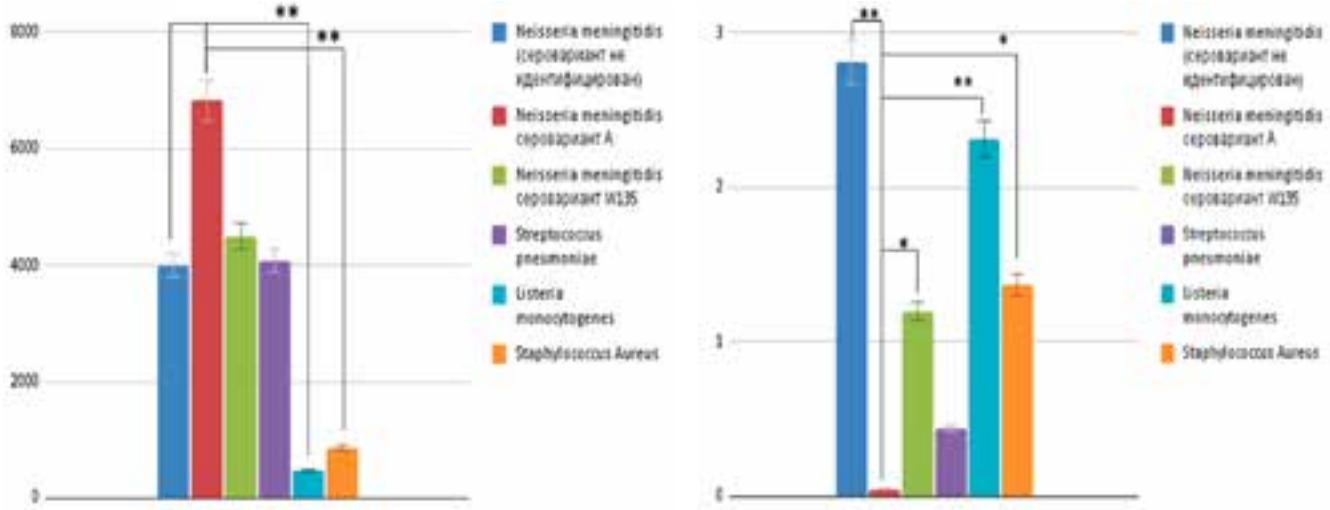
Пациенты с менингитом, вызванным *Staphylococcus aureus*. В группе пациентов с менингитом, вызванным *Staphylococcus aureus,* средний возраст составил 63 года (±6 лет, от 31 до 69 лет). У 60% (n=3) пациентов наблюдалось тяжелое течение заболевания, у 40% (n=2) – средняя степень тяжести. По показателям ликвора: цитоз 869 клеток/мл, нейтрофилы 96%, лимфоциты 4%, моноциты 0%, белок 1,25 г/л, глюкоза 1,4 мМоль/л, хлориды 120 мМоль/л, лактат 2,2 мМоль/л, D-димер 1670 нг/мл.

Пациенты с менингитом, вызванным *Listeria monocytogenes.* Среди пациентов с менингитом, вызванным *Listeria monocytogenes* средний возраст составил 60 лет (±12,5 лет, от 24

до 75 лет). В 83,3% (n=5) случаев наблюдалось тяжелое течение заболевания, 16,7% (n=1) – средняя степень тяжести. При исследовании изменений ликвора были выявлены следующие показатели: цитоз 475 клеток/мл, нейтрофилы 49,5%, лимфоциты 50%, моноциты 0,5%, белок 3,07 г/л, глюкоза 2,13 мМоль/л, хлориды 117,5 мМоль/л, лактат 3,99 мМоль/л, D-димер 2870 нг/мл.

Ввиду малого числа пациентов с менингитами, вызванными *Acinetobacter baumannii, Enterococcus faecium, Escherihia Coli, Klebsiella pneumonia, Streptococcus группы B, смешанной флоры (Str. группы G* и *L. Monocytogenes)*, статистический анализ в данных группах не проводился.

При проведении статистического анализа изменений показателей ликвора у пациентов с различными возбудителями менингита было выявлено, что в группах с *N. Meningitidis серогруппы A* и неидентифицированным сероварианом менингококка уровень цитоза был достоверно выше, чем у пациентов с *L. Monocytogenes* ($p<0,01$). В случае менингита, вызванного *N. Meningitidis серогруппы A,* общий цитоз также был достоверно выше по сравнению с группой пациентов со *Staphylococcus aureus* ($p<0,01$). При этом в группах пациентов с менингококковым (все сероварианты) и пневмококковым менингитами наблюдался сопоставимо высокий уровень цитоза (статистически значимых различий не получено, $p>0,05$). Также, в случае *N. Meningitidis серогруппы A* наблюдалась достоверно более низкая концентрация глюкозы в ликворе по сравнению с неидентифицированным сероварианом *N. Meningitidis* ($p<0,01$), *N. Meningitidis серогруппы W135* ($p<0,05$), *L. Monocytogenes* ($p<0,01$) и *Staphylococcus aureus* ($p<0,05$) (рис. 2). При анализе других показателей ликвора у пациентов с менингитами различной этиологии статистически значимых различий не выявлено.



А) Б)

Рис. 2. Изменения показателей ликвора при различных возбудителях (А – общий цитоз (клеток/мл), Б – концентрация глюкозы (мМоль/л))

Примечание: * - p<0,05, ** - p<0,01

III Оценка взаимосвязи между показателями ликвора и тяжестью течения заболевания. Для оценки ассоциаций между изменениями показателей ликвора и тяжестью течения менингита была выполнена кластеризация всей когорты пациентов по алгоритму k-means с учетом следующих характеристик: цитоз (клеток/мл), белок (г/л), глюкоза (мМоль/л), хлориды (мМоль/л), лактат (мМоль/л), D-димер (нг/мл). Все пациенты были разделены на два кластера.

К I кластеру было отнесено 27 пациентов с показателями ликвора: цитоз 25000клеток/мл, белок 5,71 г/л, глюкоза 0,1 мМоль/л, хлориды 114 мМоль/л, лактат 18,5 мМоль/л, D-димер 3530 нг/мл. У 96,3% пациентов наблюдалось тяжелое течение менингита, в 3,7% - средняя степень тяжести. При этом обращало на себя внимание развитие отека-набухания головного мозга у 81,5% пациентов, синдрома системного воспалительного ответа – 44,4%, инфекционно-аллергического артрита - 18,5%, инфекционно-токсического шока – 7,4%, вентрикулита в 7,4% случаев, пареза голосовых связок – 7,4%, полиорганной недостаточности у 3,7% пациентов, и полинейропатии у 3,7% пациентов (рис. 3).

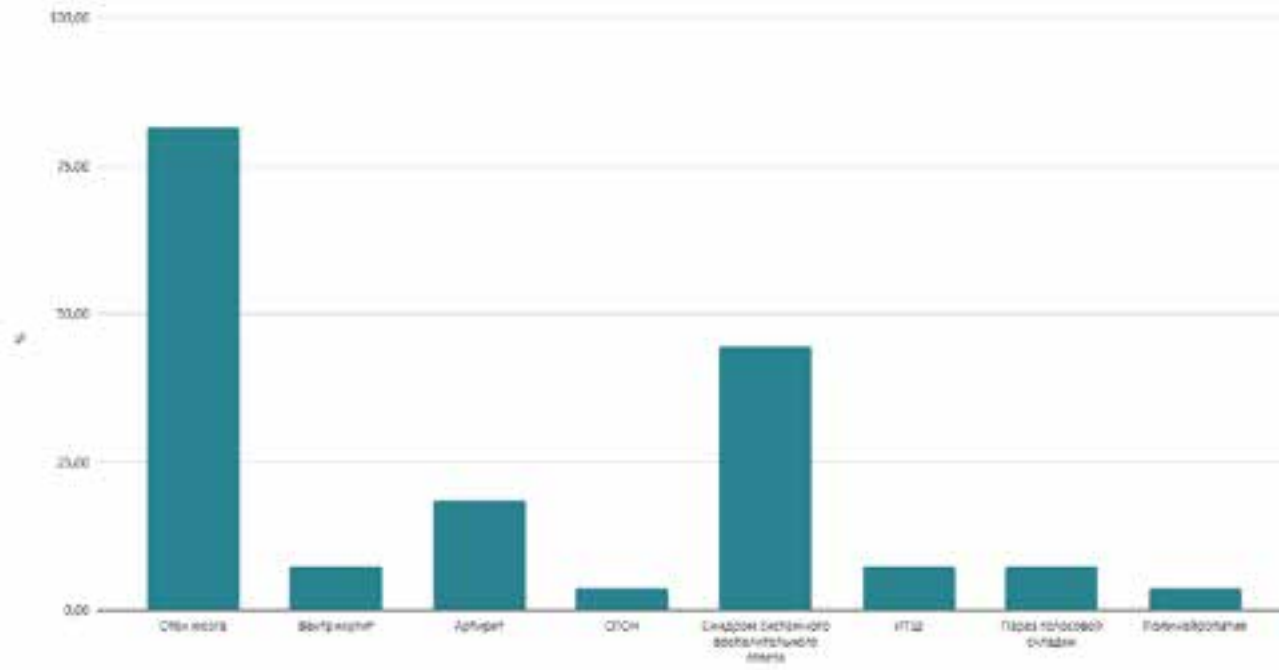


Рис. 3. Частота развития осложнений у пациентов I кластера

Ко II кластеру было отнесено 83 пациента со следующими показателями ликвора: цитоз 1780 клеток/мл, белок 3,47 г/л, глюкоза 1,31 мМоль/л, хлориды 118 мМоль/л, лактат 6,34 мМоль/л, D-димер 2040 нг/мл. В 75,9% случаев наблюдалось тяжелое течение заболевания, в 24,1% состояние пациентов соответствовало средней степени тяжести. При анализе частоты развития осложнений отека-набухание головного мозга наблюдалось у 25,3% пациентов, синдрома системного воспалительного ответа в 16,9% случаев, развитие инфекционно-

аллергического артрита у 14,5%, инфекционно-токсического шока – 2,4%, полиорганной недостаточности - 1,2%, вентрикулита у 1,2% пациентов и мозжечковой атаксии в 1,2% случаев (рис. 4).

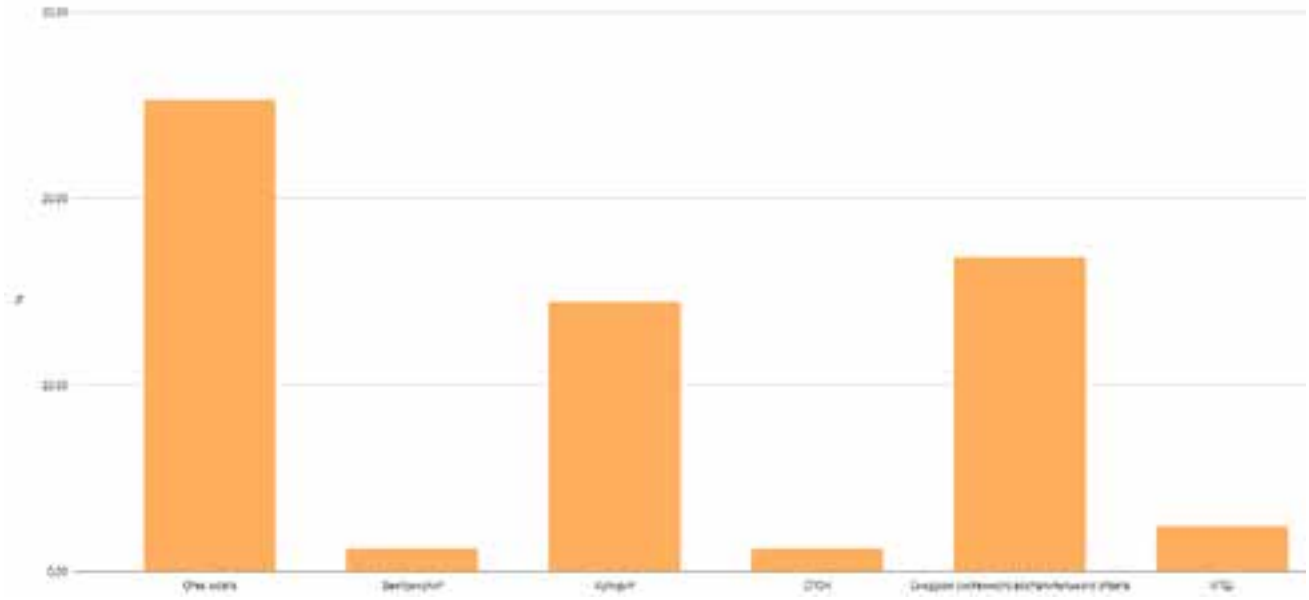
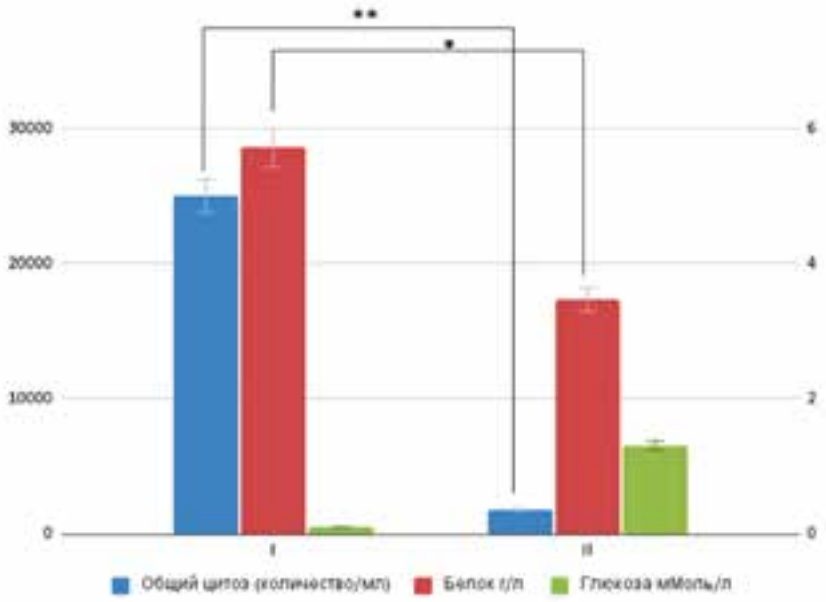


Рис. 4. Частота развития осложнений у пациентов II кластера

При проведении статистического анализа выявленных различий в показателях ликвора для пациентов разных кластеров в I кластере был выявлен достоверно более высокий уровень цитоза ($p<0,01$), белка ($p<0,05$) (рис. 5а), лактата ($p<0,01$) и D-димера ($p<0,05$) по сравнению со II кластером (рис. 5б). Для других показателей ликвора статистически значимых различий не было получено.

А)



Б)

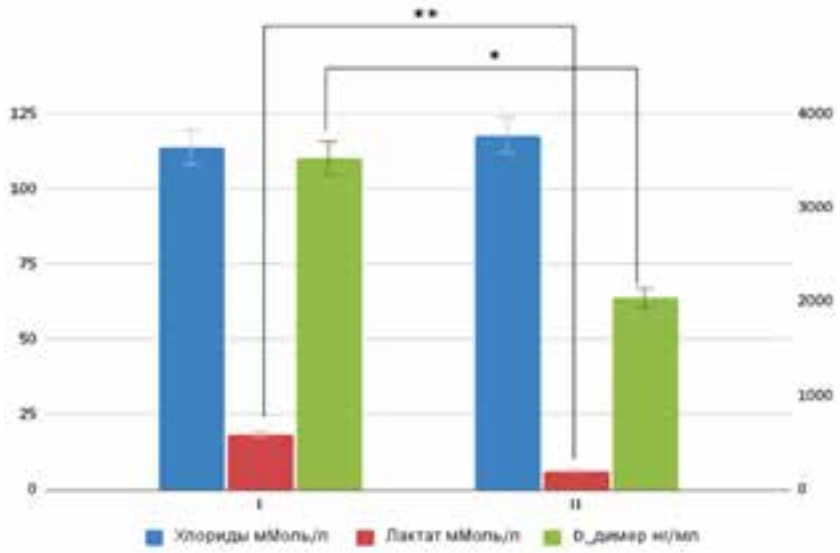


Рис. 5. Изменения показателей ликвора у пациентов различных кластеров
(А – общий цитоз (клеток/мл), белок (г/л), глюкоза (мМоль/л); Б – хлориды (мМоль/л), лактат (мМоль/л), D-димер (нг/мл)
Примечание: * - p<0,05, ** - p<0,01

Выводы. В этиологической структуре бактериальных менингитов в исследуемой когорте пациентов преобладала *Neisseria Meningitidis*. Среди пациентов с менингококковым менингитом наиболее часто верифицированы сероварианты А и W135. Наиболее выраженные изменения в ликворе с высокими показателями цитоза в сочетании с низким уровнем глюкозы наблюдались у пациентов с гнойным менингитом, вызванным *Neisseria Meningitidis сероварианта А*. Высокие показатели цитоза, белка, лактата и D-димера в ликворе ассоциировались с тяжелым течением заболевания, развитием специфических и жизнеугрожающих осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wall E.C., Chan J.M., Gil E, et al. Acute bacterial meningitis. // Curr Opin Neurol. – 2021. - №34. – С. 386-395.

2. Oligbu G., Collins S., Djennad A., et al. Effect of pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal meningitis, England and Wales, July 1, 2000– June 30, 2016. // Emerg Infect Dis. – 2019. - № 25. – С. 1708–1718.

3. Acevedo R., Bai X., Borrow R., et al. The Global Meningococcal Initiative meeting on prevention of meningococcal disease worldwide: epidemiology, surveillance, hypervirulent strains, antibiotic resistance and high-risk populations. // Expert Rev Vaccines. – 2019. - №18. – С. 15–30.

4. Wahl B., O'Brien K.L., Greenbaum A., et al. Burden of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000–15. // Lancet Glob Health. – 2018. - № 6. – C.744–757.

5. Hasperhoven G.F., Al-Nasiry S., Bekker V., et al. Universal screening versus risk-based protocols for antibiotic prophylaxis during childbirth to prevent early-onset group B streptococcal disease: a systematic review and metaanalysis. // BJOG. – 2020. - № 127. C. 680–691.

6. Sharew A., Bodilsen J., Hansen B.R., Nielsen H., Brandt C.T. The cause of death in bacterial meningitis. // BMC Infect Dis. – 2020. - №20. C. 182-187.

КАРДИОЛОГИЯ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ

Амосов Николай Михайлович (1913–2002)

«Покой вреден. Физическая нагрузка полезна всегда. Беречь нужно только систему психического напряжения, т.е. уметь давать себе психологический отдых»

АНАТОМИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП ФОРМИРОВАНИЯ СПЕКТРА СИНИХ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ СЕРДЦА

К.М. Джиджихия (Konstantine Malkhazovich Dzhidzhikhiya), к.м.н.

ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Введение

Врожденные пороки сердца, которые формируются в результате нарушения нормального развития эмбрионального конуса и трункуса, принято объединять в группу пороков конотрункуса, к которым относятся общий артериальный ствол, дефект аорто-легочной перегородки (аорто-легочное окно), атрезия легочной артерии, тетрада Фалло, а также отхождение аорты и легочной артерии от правого желудочка (ОАЛА от ПЖ) и транспозиция магистральных артерий (ТМА).

Нормальное развитие конотрункуса состоит из процессов септации, ротации и резорбции, любое отклонение от которых сопровождается формированием того или иного порока сердца. Общий артериальный ствол развивается из-за полного отсутствия трункальной перегородки, необходимой для разделения просвета трункуса и общего трункального клапана на аортальный и легочный компоненты. В свою очередь, аорто-легочное окно является результатом нарушения септации дистальной части трункуса (выше клапанного уровня), в то время как процесс септации проксимальной части (на клапанном уровне) происходит нормально, что приводит к наличию трункального клапана, разделенного на аортальный и легочный клапаны [1]. Последний морфологический признак является основным отличительным критерием аорто-легочного окна от общего артериального ствола.

При тетраде Фалло процесс нормальной септации трункуса и конуса сохраняется, но имеет место передне-левое смещение конусной перегородки в сторону легочной артерии, что отвечает за формирование остальных компонентов порока – дефекта межжелудочковой перегородки (ДМЖП), декстрапозиции аорты и гипертрофии правого желудочка [2,3]. Крайняя степень смещения конусной перегородки приводит к формированию атрезии легочной артерии.

Отдельную группу в структуре самих пороков конотрункуса составляют ОАЛА от ПЖ и ТМА, которые характеризуются аномальной ротацией эмбрионального трункуса. В нормально развивающемся сердце ротация трункуса происходит вправо (при наблюдении с краниальной позиции), что приводит к смещению аорты к левому желудочку. При ОАЛА от ПЖ имеет место недостаточная ротация трункуса вправо, при которой аорта продолжает большей частью отходить от правого желудочка, и формируется ДМЖП как следствие разобщения осей конусной и межжелудочковой перегородок [4,5]. При ТМА же наблюдается противоположная ротация трункуса влево, что способствует смещению аорты кпереди от легочной артерии, а легочный

клапан перемещается через межжелудочковую перегородку к левому желудочку и сближается с митральным клапаном [6].

Таким образом, к эмбриональным механизмам формирования пороков конотрункуса относятся: нарушение образования трункальной перегородки (общий артериальный ствол, аорто-легочное окно), отклонение конусной перегородки (тетрада Фалло, атрезия легочной артерии), а также нарушение ротации трункуса (ОАЛА от ПЖ и ТМА). Последний механизм является наиболее вариабельным по сравнению с первыми двумя, в связи с чем морфологический диапазон ОАЛА от ПЖ и ТМА намного шире.

Сложности в понимании анатомии и эмбриогенеза ОАЛА от ПЖ и ТМА возникают при анализе их различных морфологических вариантов (подтипов), т.к. оба порока являются не конкретной одной нозологической единицей, а представляют собой широкий спектр пороков сердца, объединенных общим критерием: отхождением большей части артериальных клапанов от правого желудочка для ОАЛА от ПЖ и отхождением большей части артериальных клапанов от противоположных желудочков для ТМА.

Гипотеза настоящего исследования заключается в том, что все морфологические варианты ОАЛА от ПЖ и ТМА представляют собой единый спектр врожденных пороков конотрункуса, отличающихся лишь направленностью и степенью ротации трункуса в период эмбриогенеза, от которых зависит: 1 - взаимоотношение аорты и легочной артерии; 2 - локализация ДМЖП; 3 - ход артериальных стволов (спиралевидный/параллельный). В соответствии с этим, нулевая гипотеза подразумевает отсутствие влияния направленности и степени ротации трункуса на данные параметры.

Цель исследования: определить степень эмбриональной ротации конотрункуса, взаимоотношение артериальных клапанов и ход артериальных стволов при различных вариантах ОАЛА от ПЖ и ТМА.

Материалы и методы

Исследование представляет собой проспективный анализ 99 пациентов с диагнозом ОАЛА от ПЖ (n=77), а также простой ТМА (n=22), которым была выполнена мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) с контрастированием камер сердца на период с 2013 по 2020 гг. Наличие таких сопутствующих аномалий как атрезия легочной артерии, атрезия атриовентрикулярного клапана, полная форма атриовентрикулярного канала, несбалансированные желудочки, аномалия положения сердца, множественные ДМЖП, синдром гетеротаксии, ассиметричная деформация грудной клетки, передне-левое расположение аорты (L-аорта) и criss-cross сердца служили критериями исключения.

В связи с тем, что цель исследования подразумевала измерение и изучение морфологических параметров сердца, то анализ демографических и клинических показателей пациентов не производился.

Основным методом исследования являлась компьютерная морфометрия структур сердца по данным МСКТ с контрастированием. Так как термин «трункус» характерен для эмбрионального сердца, из которого в последующем развиваются аорта и легочная артерия, то прямым анатомическим коррелятом оси трункуса в постанатальном периоде является ось артериальных клапанов.

Все компьютерные измерения проводились на аксиальных срезах на уровне аортального и легочного клапанов с краниальной позиции (т.е. при виде сверху). Так как вместе с ротацией эмбрионального трункуса происходит отклонение не только оси артериальных клапанов, но и реориентация перпендикулярной ей конусной перегородки (разделяющей аортальный и легочный клапаны), то степень ротации трункуса может быть определена по отношению оси артериальных клапанов к фронтальной плоскости, либо по отношению ориентации оси конусной перегородки к сагиттальной плоскости.

Отклонение оси артериальных клапанов и конусной перегородки вправо обозначалось положительным знаком (+), т.к. соответствует направлению ротации при нормальном эмбриогенезе, в то время как отклонение влево обозначалось отрицательным знаком (-), что свидетельствует о противоположной ротации трункуса (рис.1).

Коммитированность ДМЖП при ОАЛА от ПЖ определялась по данным Эхо-КГ и подтверждалась данными МСКТ с контрастированием. Так как локализация ДМЖП имеет главное значение для определения хирургической тактики в связи с необходимостью туннелирования того или иного артериального клапана, то все пациенты с ОАЛА от ПЖ были разделены на следующие группы: группа 1 - с подаортальным ДМЖП (n=32), группа 2 – с подлегочным ДМЖП (n=17), группа 3 – с подартериальным ДМЖП (n=6), группа 4 – с условно-некоммитированным ДМЖП (n=7), группа 5 - с истинно-некоммитированным ДМЖП (n=15). Условно-некоммитированным считался дефект, расположенный в подаортальной области, но за счет выраженного подаортального конуса отделенный от края дефекта на расстояние больше диаметра аортального клапана. Истинно-некоммитированным считался дефект, расположенный в приточной части межжелудочковой перегородки под септальной створкой трикуспидального клапана. Пациенты с простой ТМА составили группу 6 (n=22).

Взаимоотношение артериальных клапанов определялось как расположение аорты по отношению к легочной артерии сзади и справа (DP), справа (D), справа и спереди (DA), спереди (A), спереди и слева (LA).

Определение спиралевидного (**§**) или параллельного (**II**) хода сосудов выполнялось на основании трехмерной модели сердца по данным МСКТ с контрастированием. При перекрещивании артериальных стволов в прямой и боковой проекциях ход стволов определялся как спиралевидный, в то время как во всех остальных случаях как параллельный [7].

Методы статистики. Статистический анализ данных был выполнен с помощью программы SPSS 17.0. Описание количественных данных представлено с помощью методов параметрической ($M \pm m$) и непараметрической статистики (Me (min-max)). Попарное и межгрупповое сравнение выполнено с использованием критерия Манна-Уитни и метода ANOVA, соответственно. Достоверность различий принималась при $p<0.05$.

Результаты

Результаты морфометрических измерений представлены в таблице 1. Средний угол между осью артериальных клапанов и фронтальной плоскостью (угол ротации трункуса) составил: в группе 1 - 28°±3° (23°-34°), в группе 2 - 0° (-68°, 10°), в группе 3 - 16°±9° (4°-28°), в группе 4 - 7°±5° (0°-13°), в группе 5 - 4° (-5°, 10°), в группе 6 - -93°±14° (-80°-(-128°)).

Спиралевидный ход артериальных стволов наблюдался у всех пациентов группы 1 и у 33% (2 из 6) пациентов группы 3. Во всех остальных случаях имелся параллельный ход стволов.

В группе 1 во всех случаях аорта располагалась справа и сзади от легочной артерии – DP-аорта. В группе 2 у 65% пациентов (11 из 17) наблюдалась D-аорта, в то время как у 35% (6 из 17) DA-аорта. В группе 3 у двоих пациентов со спиралевидным ходом аорты и легочной артерии аорта располагалась справа и сзади (DP-аорта) (33%; 2 из 6), а у пациентов с параллельным ходом стволов аорта располагалась справа (D-аорта) (66%; 4 из 6). В группе 4 у четырех пациентов наблюдалось D-аорта (57%; 4 из 7), а у троих DP-аорта (43%; 3 из 4). В группе 5 расположение стволов варьировало от DP-аорты (13%; 2 из 15) и D-аорты (54%; 8 из 15) к DA-аорте (33%; 5 из 15). В последнем случае заднее расположение аорты не доходило до степени, характерной для пациентов группы 1. В группе 6 у двенадцати пациентов с ТМА (55%; 12 из 22) аорта располагалась спереди от легочной артерии (A-аорта), в то время как как у 10 (45%; 10 из 22) спереди и слева (LA - аорта).

Обсуждение

В соответствии с классическими работами Lev и соавт., начиная с 1972 года выделяют варианты ОАЛА от ПЖ с подаортальным, подлегочным, подартериальным и некоммитированным дефектами, при этом каждый из подтипов порока может сочетаться со стенозом легочной артерии и различным взаимоотношением аорты и легочной артерии [8]. В

свою очередь, ТМА принято разделять на сложный и простой варианты в зависимости от наличия или отсутствия ДМЖП, соответственно.

Несмотря на большое количество анатомических и клинических исследований в современной мировой литературе, на сегодняшний день остаются важные нерешенные вопросы в спектре пороков конотрункуса. Во-первых, отсутствие четких морфологических 01 ОАЛА от ПЖ и ТМА, с помощью которых можно было бы определить границы между ними, ведет к существованию т.н. переходных анатомических форм, когда определенно нельзя сказать относится ли порок к ТМА или же к ОАЛА от ПЖ. Аналогичная проблема существует и на другом конце спектра ОАЛА от ПЖ между тетрадой Фалло и «тетрадной» формой ОАЛА от ПЖ. Во-вторых, не существует концепции, закономерно объясняющей формирование различных вариантов ОАЛА от ПЖ или ТМА, что вносит трудности в систематизацию данных пороков. Например, имеются лишь морфологические тенденции, что при ОАЛА от ПЖ со спиралевидным закручиванием артериальных стволов ДМЖП, скорее всего, локализуется в подаортальной области, в то время как при параллельном ходе стволов – в подлегочной [9].

ОАЛА от ПЖ. При анализе степени ротации трункуса, определяемого как угол, формируемый между осью артериальных клапанов и фронтальной плоскостью нами выявлены четкие диапазоны для каждой формы ОАЛА от ПЖ в зависимости от коммитированности ДМЖП, которые по степени возрастания угла ротации располагаются в следующем ряду: ОАЛА от ПЖ с подлегочным ДМЖП (аномалия Тауссиг-Бинг) (0°), ОАЛА от ПЖ с истинно-некоммитированным ДМЖП (4°), ОАЛА от ПЖ с условно-некоммитированным ДМЖП (7°±5°), ОАЛА от ПЖ с подартериальным ДМЖП (16°±9°), ОАЛА от ПЖ с подаортальным ДМЖП (28°±3°) (рис.2). По сути, условно-некоммитированные ДМЖП являются подаортальными, если не принимать во внимание длину подаортального мышечного конуса.

В связи с этим пациенты с подартериальным ДМЖП были разделены на две подгруппы со спиралевидным (группа 3А) и параллельным (группа 3Б) ходом аорты и легочной артерии, угол ротации при которых составил 26° и 11°, соответственно. В группе 3А конусная перегородка как мышечная структура полностью отсутствовала (аортально-легочный фиброзный контакт), а угол ротации трункуса почти соответствовал таковому при ОАЛА от ПЖ с подаортальным ДМЖП. В свою очередь, в группе 3Б конусная перегородка, наоборот, была выражена, и угол ротации трункуса приближался к ОАЛА от ПЖ с подлегочным ДМЖП. Подобные морфологические особенности предполагают различный эмбриогенез и механизм подартериальных ДМЖП. В группе 3А кровь из левого желудочка попадает в оба артериальных ствола в силу отсутствия конусной перегородки, которая в норме разграничивает подлегочный и подаортальный инфундибулумы (рис.3А). В группе 3Б аналогичные гемодинамические нарушения возникают в силу расположения конусной перегородки (которая разделяет подартериальные

инфундибулумы) посередине над ДМЖП, что способствует нависанию обоих артериальных клапанов над ним (рис.3Б).

Подобное анатомическое разделение подартериальных дефектов имеет и большое хирургическое значение, т.к. объем операции в группе 3А почти соответствует таковому при ОАЛА от ПЖ с подаортальным дефектом, тогда как в группе 3Б может быть туннелирована как аорта, так и легочная артерия с последующим выполнением артериального переключения.

ДМЖП при подаортальной (в том числе при условно-некоммитированном дефекте), подартериальной или подлегочной локализации при ОАЛА от ПЖ является коновентрикулярным и фактически локализуется в одном и тоже же месте – в выводной части межжелудочковой перегородки (МЖП), а его близость к артериальным клапанам зависит от взаимоотношения аорты и легочной артерии. В эмбриональном сердце прямым коррелятом такого ДМЖП является бульбовентрикулярное окно (между примитивным желудочком и бульбусом). В связи с этим, истинно-некоммитированные ДМЖП, расположенные не в выводной, а в приточной части МЖП, по всей видимости, являются результатом заращения бульбовентрикулярного окна гипертрофированной конусной перегородкой, а сообщение между желудочками, необходимое для жизнедеятельности, осуществляется за счет наличия дополнительного ДМЖП в приточной части МЖП [10].

ТМА. При простой ТМА наблюдалась обратная картина с отклонением оси артериальных клапанов и конусной перегородки влево, при котором средний угол ротации трункуса составил -93° (рис.2). Во всех случаях отмечался параллельный ход артериальных стволов.

Исходя их полученных данных можно сделать заключение, что спектр пороков ОАЛА от ПЖ является результатом различной степени ротации трункуса вправо, а простая ТМА развивается при противоположной ротации турнкуса влево.

Ход артериальных стволов. При анализе хода артериальных стволов было выявлено, что во всех группах кроме 1 и 3А аорта и легочная артерия располагались параллельно друг другу. Иными словами, спиралевидный ход сосудов имел место лишь в спектре пороков ОАЛА от ПЖ и возможен лишь при ротации трункуса вправо (+°). Группа 1 и группа 3А со спиралевидным ходом стволов характеризуются наибольшей степенью ротации трункуса по сравнению с другими группами, что указывает на закручивание аорты и легочной артерии по мере увеличения угла ротации вправо.

Учитывая тот факт, что еще до начала ротации трункуса эмбриональные аорта и легочная артерия располагаются «бок о бок» (D-аорта), то максимально приближенным к подобной анатомии является аномалия Тауссиг-Бинг, которая, по всей видимости, является результатом отсутствия ротации трункуса вообще - 0°. Отсюда можно сделать заключение, что «Тауссиг-Бинг» этап эмбрионального развития сердца является общим для спектра ОАЛА от ПЖ и ТМА,

формирование которых зависит от дальнейшего направления ротации трункуса – вправо для ОАЛА от ПЖ (+°), влево для ТМА (-°) (рис.4).

На сегодняшний день каждая из вышеуказанных анатомических форм ОАЛА от ПЖ и ТМА выделяется в относительно обособленный порок сердца с характерной гемодинамикой и тактикой хирургического лечения. На наш взгляд, принимая во внимание один и тот же, но выраженный в различной степени, эмбриональный механизм (нарушение ротации трункуса), с анатомической точки зрения представляется целесообразным рассматривать все морфологические варианты ОАЛА от ПЖ и ТМА в виде единого спектра пороков с нарушением желудочково-артериальной конкордантности. При этом решающими критериями в выборе метода хирургической коррекции являются коммитированность ДМЖП, наличие стеноза легочной артерии и трикуспидально-легочное расстояние [11].

Недостатком настоящего исследования является отсутствие пациентов с ТМА/ДМЖП и стенозом легочной артерии из-за недостаточного количества случаев. Теоретически некоторые сложные варианты ТМА с ДМЖП, обусловленные расхождением конусной перегородки с передней МЖП, по спектру ротации трункуса влево (-°) могу располагаться между аномалией Тауссиг-Бинг и простой ТМА, но данное предположение требует выполнения дальнейших исследований.

Выводы. Формирование ТМА или ОАЛА от ПЖ зависит от направления ротации конотрункуса на «Тауссиг-Бинг» этапе эмбрионального развития сердца: при ротации влево - формируется ТМА; при ротации вправо – ОАЛА от ПЖ. Спектр пороков ОАЛА от ПЖ формируется при аномальной ротации конотрункуса вправо, при этом локализация ДМЖП зависит от степени самой ротации. Спиралевидное закручивание артериальных стволов происходит при постепенной ротации конотрункуса вправо и встречается только при ОАЛА от ПЖ и невозможен при ТМА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bartelings M.M., Gittenberg-de Groot A.C. Morphogenetic consideration on congenital malformations of the outflow tract. Part 1: common arterial trunk and tetralogy of Fallot. International Journal of Cardiology. 1991.32:213-230 doi.org/10.1016/0167-5273(91)90329-n
2. Van Mierop L.H., Wigelsworth F.W. Pathogenesis of transposition complexes. II. Anomalies due to faulty transfer of the posterior great artery. American Journal of Cardiology. 1963.12:226-232 doi.org/10.1016/0002-9149(63)90312-6
3. Goor D.A., Lillehei C.W. Edwards J.E. Ventricular septal defects and pulmonic stenosis with and without dextraposition. Anatomic features and embryologic implications. Chest. 1971.60:117-128 doi.org/10.1378/chest.60.2.117
4. Anderson R.H., Wilkinson J.L., Arnold R., Becker A.E., Lubkiewicz K. Morphogenesis of bulboventricular malformations. II. Observations on malformed hearts. British Heart Journal. 1974.36:948-970 doi.org/10.1136/hrt.36.10.948
5. Baron M.G. Angiographic differentiation between tetralogy of Fallot and double-outlet right ventricle. Relationship of the mitral and aortic valves. Circulation. 1971.43:451-455 doi.org/10.1161/01.cir.43.3.451
6. Bartelings M.M., Gittenberg-de Groot A.C. Morphogenetic consideration on congenital malformations of the outflow tract. Part 2: complete transposition of the great arteries and double-outlet right ventricle. International Journal of Cardiology. 1991.33:5-26 doi.org/10.1016/0167-5273(91)90147-h
7. Angelini P., Leachman R.D. The spectrum of double outlet right ventricle: an embryologic interpretation. Cardiovascular Diseases. 1976.3:127-149 PMID: 15216161
8. Lev M., Bharati S., Meng C.C.L., Libethson R.P., Paul M.H., Idriss F. A concept of double outlet right ventricle. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 1972.64:271-281 doi.org/10.1016/s0022-5223(19)41769-8
9. Ebadi A., Spicer D.E., Backer C.L., Fricker F.J., Anderson R.H. Double-outlet right ventricle: revisited. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2017.154:598-604 doi.org/10.1016/j.jtcvs.2017.03.049
10. Беришвили И.И., Рагимов Ф.Р., Лебедева Т.М., Вахромеева М.Н. Анатомические критерии отхождения аорты и легочной артерии от правого желудочка. Архив патологии.1990.21-27
11. Sakata R., Lecompte Y., Batisse A., Borromee L., Durandy Y. Anatomic repair of anomalies of ventriculoarterial connection associated with ventricular septal defect. I. Criteria of surgical decision. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.1988.95:90-95 doi.org/10.1016/s0022-5223(19)35391-7

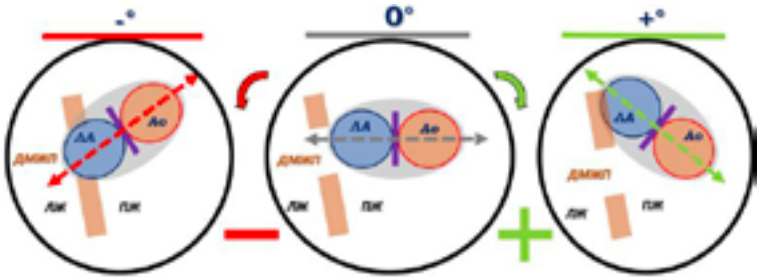


Рисунок 1. Направление эмбриональной ротации трункуса с отклонением оси артериальных клапанов и конусной перегородки вправо (+°) и влево (-°) относительно исходной позиции (0°)
Обозначения: Ао – аорта; ЛА – легочная артерия; ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки; ПЖ – правый желудочек; ЛЖ – левый желудочек; фиолетовая фигура – конусная перегородка

Таблица 1. Результаты морфометрических измерений по данным МСКТ с контрастированием пациентов с ОАЛА от ПЖ и простой ТМА

Группа	Ход стволов	Угол ротации трункуса	DA-аорта	D-аорта	DP-аорта	A-аорта	LA-аорта
Группа 1 (подаортальный дефект) *(n=32)*	§	28°±3° (23°-34°)	-	-	32	-	-
	II		-	-	-	-	-
Группа 2 (подлегочный дефект) *(n=17)*	§	0° (-68°, 10°)	-	-	-	-	-
	II		6	11	-	-	-
Группа 3 (подартериальный дефект) *(n=6)*	§	16°±9° (4°-28°)	-	-	2	-	-
	II		-	4	-	-	-
Группа 4 (условно-некоммитированный дефект) *(n=7)*	§	7°±5° (0°-13°)	-	-	-	-	-
	II		-	4	3	-	-
Группа 5 (некоммитированный дефект) *(n=15)*	§	4° (-5°, 10°)	-	-	-	-	-
	II		2	8	5	-	-
Группа 6 (простая ТМА) *(n=22)*	§	-93°±14° (-80°-(-128°))	-	-	-	-	-
	II		-	-	-	12	10
p		**<0.05**	**<0.05**	**<0.05**	**<0.05**	**<0.05**	**<0.05**

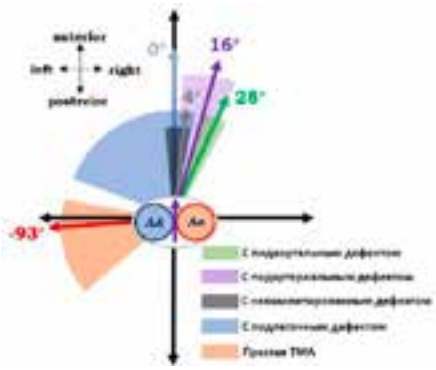


Рисунок 2. Спектр ротации конусной перегородки относительно ее исходной эмбриональной позиции при различных вариантах ОАЛА от ПЖ и простой ТМА по данным компьютерной морфометрии (условно-некоммитированные дефекты не включены)

А Б

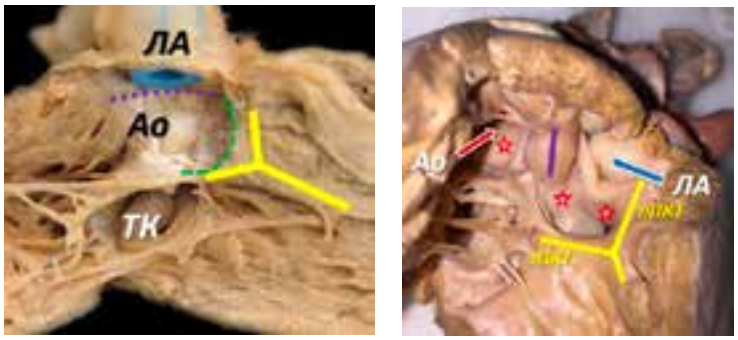


Рисунок 3. Типы подартериальных дефектов при ОАЛА от ПЖ: **А** – с отсутствием конусной перегородки (пунктирная фиолетовая линия) и спиралевидных ходом артериальных стволов; **Б** – с выраженной конусной перегородкой (фиолетовая линия) и параллельным ходом артериальных стволов

Обозначения: Ао – аорта; ЛА – легочная артерия; ПКТ – перегородочно-краевая трабекула с ее передней (пПКТ), и задней (зПКТ) ножками; звездочки – бульбовентрикулярная складка

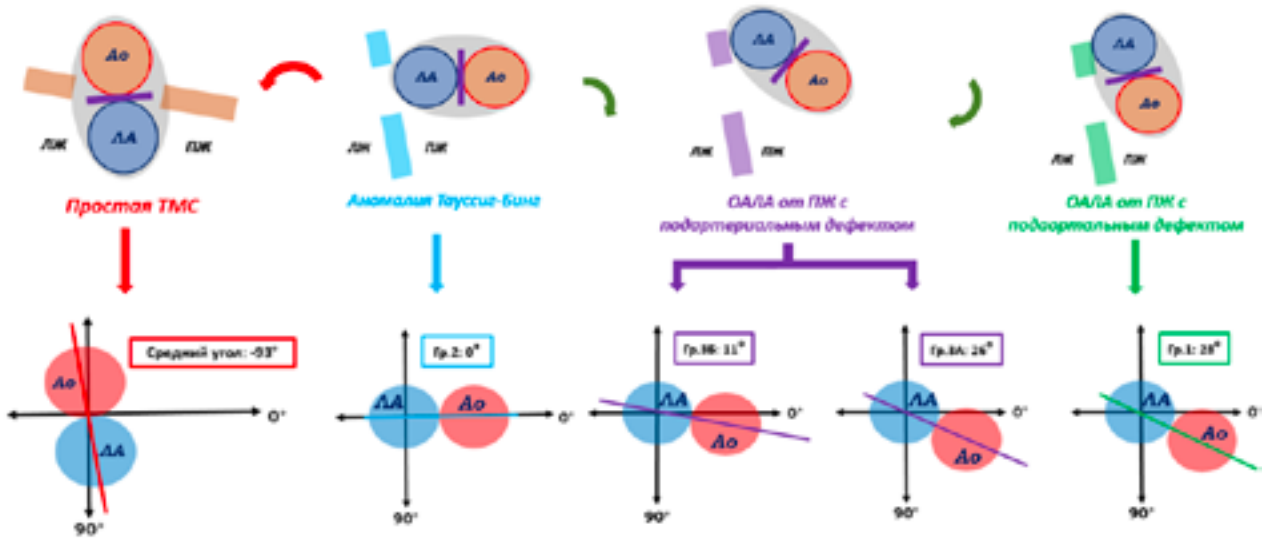


Рисунок 4. Зависимость формирования спектра ОАЛА от ПЖ и ТМА от направления ротации трункуса на «Тауссиг-Бинг» этапе эмбрионального развития сердца

Обозначения те же, что и на рисунке 1

ЭНТЕРАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ

М.С. Жигалова*, В.В. Киселев, А.А. Рык, С.С. Петриков, П.А. Ярцев

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», Москва, Россия

*e-mail: ZhigalovaMS@sklif.mos.ru. Тел.: +7 (915) 039 26 32.

Аннотация

Синдром кишечной недостаточности у пациентов с циррозом печени приводит к развитию системных нарушений, таких как: спонтанный бактериальный перитонит, гиперметаболизм, портальная гипертензия, печеночная энцефалопатия и полиорганная недостаточность.

Цель исследования - улучшение результатов лечения пациентов с циррозом печени путем оптимизации энтеральной терапии.

Материал и методы

В настоящее исследование было включено 109 пациентов (62 мужчины (56,9%) и 47 женщин (51,6%)) с диагнозом цирроз печени, класс «С» по шкале Child-Pugh. Средний возраст пациентов составил 47,9±14,2 лет. В группу сравнения (n=91) были включены пациенты, которым проводилась стандартизированная интенсивная терапия, согласно Национальным клиническим рекомендациям «Фиброз и цирроз печени» (2021г). В основную группу (n=18) вошли пациенты с циррозом печени, лечение которых было дополнено проведением энтеральной терапии с использованием СЭР и последующим введением многокомпонентной смеси для энтерального питания, содержащей в своем составе суточные дозировки дипептид аланил-глутамина, трибутирина, селена и цинка.

Результаты и их обсуждение

В результате проведения энтеральной терапии у пациентов основной группы на 3-и сутки отмечалось статистически значимое снижение уровня лактата, аммиака. К 7-м суткам регистрировалось достоверное снижение концентрации желчных кислот. Также у пациентов основной группы к 7-м суткам регистрировалась I, II степени печеночной энцефалопатии, в то время, как у пациентов группы сравнения описывалась III степень печеночной энцефалопатии.

Заключение

Предложенная схема способствовала более быстрому регрессу явлений печеночной энцефалопатии, снижению уровня летальности, по сравнению с группой, в которой проводилась стандартная терапия.

Ключевые слова: цирроз печени, синдром кишечной недостаточности, солевой энтеральный раствор, печеночная энцефалопатия.

ENTERAL THERAPY IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS IN INTENSIVE CARE UNIT

M.S. Zhigalova, V.V. Kiselev, A.A. Ryk, S.S. Petrikov, P.A. Yartsev.

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine

Corresponding author: Zhigalova M.S. E-mail: ZhigalovaMS@sklif.mos.ru; +7 (915) 039 26 32.

Abstract

Intestinal failure syndrome in patients with cirrhosis leads to the development of systemic disorders, such as: spontaneous bacterial peritonitis, hypermetabolism, portal hypertension, hepatic encephalopathy and multiple organ failure.

Key words: liver cirrhosis, intestinal failure syndrome, saline enteral solution, hepatic encephalopathy.

Введение

Согласно Национальным клиническим рекомендациям, цирроз печени (ЦП) - это диффузный процесс, который характеризуется фиброзом и трансформацией нормальной структуры печени с образованием узлов, и является финальной стадией большинства хронических диффузных заболеваний печени [1]. По данным ВОЗ, в мире более 20 миллионов человек страдают ЦП, частота заболеваемости составляет около 20–40 больных на 100 тыс. населения. [2]. При этом, ЦП является одной из самых частых причин смерти, особенно в развивающихся странах. Уровень летальности в мире достигает 2,4% от общего количества летальности [3, 4]. Печень получает большую часть крови из кишечника через воротную вену , которую часто называют «осью кишечник-печень». Таким образом, печень наиболее подвержена воздействию бактериальных компонентов и метаболитов, таких как липополисахариды (ЛПС), пептидогликаны, короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), желчные кислоты (ЖК) и этанол, проникающие из кишечника через эпителиальный барьер. Некоторые из них активируют клетки Купфера, нейтрофилы, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки и звездчатые клетки через систему воротной вены и способствуют высвобождению медиаторов воспаления (TNF-α, IL-6) в печени, что непосредственно приводит к повреждению печени. и заболеваниям печени [5]. Известно, что несколько родов бактерий, такие как Bacteroides, Faecalibacterium, Succinivibrio и Butyricimonas – продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты, которые обладают выраженным противовоспалительным действием и играют важную роль в поддержании микробного гомеостаза [6, 7] Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), преимущественно бутират, ацетат и пропионат, анаэробно продуцируются кишечной микробиотой кишечника. КЦЖК, особенно бутират, являются важным источником энергии для

энтероцитов кишечника и влияют на барьерную функцию желудочно-кишечного тракта посредством стимуляции синтеза белков плотных контактов [8, 9, 10, 11]

К настоящему времени имеется достаточное количество данных, подтверждающих что синдром кишечной недостаточности (СКН) при ЦП, основными патогенетическими характеристиками которого являются нарушение проницаемости кишечного барьера и кишечная транслокация, приводит к развитию системных нарушений, таких как: спонтанный бактериальный перитонит, гиперметаболизм, портальная гипертензия, печеночная энцефалопатия и полиорганная недостаточность [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. При развитии ЦП у пациентов наблюдается снижение нормальной симбиотической нагрузки, в то время как увеличивается численность условно-патогенной флоры, в том числе продуцирующей аммиак, что приводит к гипераммониемии, являющейся причиной развития и прогрессирования печеночной энцефалопатии [18] Стоит отметить, что микробный пейзаж напрямую зависит от этиологии ЦП. Так, у пациентов с ЦП в исходе неалкогольной жировой болезни печени отмечались высокая численность Bacteroides vulgatus и Escherichia coli [19]. В то время, как у пациентов с алкогольным ЦП обращало на себя внимание увеличение Bacteroides, Prevotella, Faecalibacterium и Blautia [20]. Кроме того, при циррозе печени наблюдается уменьшение количества бактерий с 7-альфа-дегидроксилирующей активностью — ферментом, который превращает первичные желчные кислоты во вторичные. Желчные кислоты, в свою очередь, оказывают бактериостатическое действие, а также выступают как лиганды для FXR (фарнезоидного рецептора) и TGR5 (рецептор-5, связанный с G-белком). Следовательно, метаболизм желчных кислот кишечной микробиотой может привести к изменениям в передаче сигналов, что может стать причиной повреждения печени. [21].

Исходя из вышесказанного можно сказать, что одна из главных «терапевтических мишеней» при лечении пациентов с ЦП, является комплексная терапия СКН. На сегодняшний день есть данные об эффективности проведения энтеральной корригирующей терапии с применением солевого энтерального раствора (СЭР) у пациентов с тяжелым острым панкреатитом (ТОП), закрытой травмой живота (ЗТЖ) и у пациентов с отравлениями психофармакологическими препаратами (ОПФП) [22, 23, 24, 25]. СЭР соответствует электролитному составу и осмолярности химуса начальных отделов тонкой кишки здорового человека. Этот способ энтеральной терапии благодаря изоионичности используемого раствора обеспечивает электролитный баланс организма, а благодаря соответствию величин осмотического давления раствора и коллоидно-осмотического давления плазмы крови исключает однонаправленный массированный транспорт воды через кишечную стенку. В процессе вместе с кишечным содержимым удаляется и часть внутриполостной микрофлоры (П-флоры), которая представлена в основном условно-патогенными и патогенными штаммами, при

этом М-флора (мукозная) сохраняется, так как находится под защитой нерастворимого в воде слоя слизистых наложений внутренней стенки кишечника. Кислая среда солевого СЭР снижает рост оставшейся в кишке условно-патогенной и патогенной флоры [26, 27]

Так, у пациентов с ОПФП проведение энтеральной коррекции включало проведение кишечного лаважа с применением СЭР в объеме 4,5-15 литров [25]. У пациентов с ТОП и ЗТЖ введение больших объемов СЭР было невозможным из-за необходимости ограничения внутривенной инфузии и внутрибрюшной гипертензии, которая часто встречается у пациентов данной категории и может привести к развитию компартмент-синдрома [22].

Важным аспектом лечения СКН является назначение раннего энтерального питания. На сегодняшний день описано положительное влияние многокомпонентной смеси для энтерального питания, содержащей в своем составе суточные дозировки дипептид аланил-глутамина, трибутирина, селена и цинка [28]. Немаловажно отметить, что компоненты входящие в состав смеси важными составляющими для поддержания гомеостаза кишечника. В частности, глутамин стимулирует пролиферацию энтероцитов и, в качестве предшественника глутатиона, предотвращает апоптоз и поддерживает окислительно-восстановительный статус клеток [29, 30]. Энтеральное введение трибутирина приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов и оксида азота [31]. Селен и цинк также обладают выраженной противовоспалительной активностью. Дефицит селена нарушает врожденные и адаптивные иммунные реакции и напрямую коррелирует с повышенной численностью Bacteroides [32]. Низкий уровень цинка также ассоциирован с избыточной колонизацией условно-патогенной и патогенной флорой, в частности, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria и Actinobacteria [33].

Таким образом, полученные положительные результаты от проведения энтеральной терапии у пациентов с ТОП, ЗТЖ и ОПФП, безопасность его использования и необходимость поиска метода лечения СКН у пациентов с циррозом печени послужили поводом для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: улучшение результатов лечения пациентов с циррозом печени путем оптимизации энтеральной терапии.

Материал и методы

В настоящее исследование было включено 109 пациентов (62 мужчины (56,9%) и 47 женщин (51,6%)) с диагнозом цирроз печени, класс «С» по шкале Child-Pugh (табл.1). Средний возраст пациентов составил 47,9±14,2 лет.

Критерии включения:

1. Диагноз цирроз печени класс «В» по шкале Child-Pugh;

2. ВРВП 2-3 степени (по данным ЭГДС);

3. Печеночная энцефалопатия 2-3 степени;

Критерии невключения:

1.Наличие признаков активного кровотечения;

2.Нестабильная гемодинамика (возрастающие дозировки вазопрессорной и инотропной поддержки);

3.Наличие конкурирующих заболеваний, обуславливающих тяжесть состояния;

4.Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания в рамках индуцированной гепарином тромбоцитопении;

Пациенты были стандартизированы по возрасту, полу, сопутствующей патологии.

Таблица 1. Распределение пациентов по возрасту и полу

Пациенты	**Основная группа**	**Группа сравнения**
Средний возраст, лет (± SD)	**51,1±10,8**	**49,2±15,7**
Пол		
Женщины	9 (50%)	38 (41,2%)
Мужчины	9 (50%)	53 (58,8%)

Для оценки эффективности энтеральной терапии пациенты были разделены на две группы:

В группу сравнения (n=91) были включены пациенты с циррозом печени, которым проводилась стандартизированная интенсивная терапия, согласно Национальным клиническим рекомендациям «Фиброз и цирроз печени» (2021г). Тяжесть состояния была оценена по шкалам: APACHE II, Child-Pugh, MELD, SOFA и составила 18,2±6,1, 11,83±0,79, 23,7±4,3, 3,4±1,07 баллов, соответственно (таб. 2).

В основную группу (n=18) вошли пациенты с циррозом печени, лечение которых было дополнено проведением энтеральной терапии с использованием СЭР и последующим введением многокомпонентной смеси для энтерального питания, содержащей в своем составе суточные дозировки дипептид аланил-глутамина, трибутирина, селена и цинка. Тяжесть состояния пациентов основной группы оценивали по шкалам: APACHE II, Child-Pugh, MELD, SOFA, что составило 17,9±4,6 11,67±0,81, 22,0±5,2, 3,2±0,94 баллов, соответственно (таб. 2). Введение СЭР осуществлялось через двухпросветный назоеюнальный зонд для одновременной декомпрессии желудка и осуществления энтерального питания в объеме 1322,2±212,9 мл в сутки со скоростью 6-10 мл/мин. Многокомпонентную смесь для энтерального питания в объеме 500мл начинали вводить через 30-40 минут после окончания энтеральной инфузии СЭР.

Таблица 2. Тяжесть состояния пациентов с циррозом печени

Шкала, баллы	Основная группа	Группа сравнения	*P*
APACHE II	**17,9±4,6**	**18,2±6,1**	**0,951**
Child-Pugh	**11,67±0,81**	**11,83±0,79**	**0,699**
MELD	**22,0±5,2**	**23,7±4,3**	**0,911**
SOFA	**3,2±0,94**	**3,4±1,07**	**0,837**

У пациентов обеих групп оценивались следующие лабораторные показатели: общий белок, альбумин, абсолютное количество лимфоцитов (применяется для расчета прогностического индекса гипотрофии [34]), лактат, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), желчные кислоты (ЖК), общий билирубин, аммиак.

Оценка степени печеночной энцефалопатии проводилась с применением теста связи чисел.

Контроль исследуемых параметров осуществлялся на 1-е, 3-и, 7-е сутки пребывания пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Микробиологический контроль с определением чувствительности к антибактериальным препаратам проводился у всех пациентов к 7-м суткам динамического наблюдения.

Полученные данные были обработаны статистически при помощи программ GraphPad Prism и MS Excel. Для каждого вариационного ряда рассчитывали среднее значение (M), среднеквадратичное отклонение (σ) – для значений параметрического распределения, медиану (Me), квартиль 25% (Q1) и квартиль 75% (Q3) – для значений непараметрического распределения. Для уточнения применимости параметрического инструментария провели оценку соответствия распределения переменных нормальному при помощи критерия Шапиро–Уилка. По результатам данного анализа было выявлено, что параметрические критерии сравнения неприменимы. Исследуемые группы сопоставляли между собой с применением рангового анализа вариаций по Краскелу-Уоллису, а также U-критерия Манна-Уитни (для парных сравнений. При оценке статистической значимости различий и изменений в качестве порогового значения было принято значение $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При поступлении в ОРИТ у пациентов отмечались высокие концентрации в сыворотке крови лактата, аммиака, печеночных трансаминаз, желчных кислот, общего билирубина. Уровни общего белка, альбумина, лимфоцитов были ниже референсных значений (табл. 3).

Таблица 3. Лабораторные показатели пациентов исследуемых групп (Me(Q1; Q3)

Показатель	Сутки пребывания в ОРИТ	Основная группа	*P1*	Группа сравнения	*P1*	*Pc*
Общий белок, г/л	1	57,7(53,1;62,0)		55,05 (52,1;60,58)		0,478
	3	58,4 (54,9;61,4)	0,596	50,9 (50,13;52,35)	**0,003**	**<0,001**
	7	59,3 (56,4;62,4)	0,196	49,95 (47,5;50,93)	**<0,001**	**<0,001**
Альбумин, г/л	1	28,4 (23,3;30,2)		27,45 (22,2;30,6)		0,952
	3	28,6 (25,9;31,6)	0,592	23,1 (21,03;26,48)	**0,037**	**0,0016**
	7	29,6 (25,3;32,0)	0,396	21,9 (19,78;23,93)	**0,0013**	**<0,001**
Абс. Кол. Лимфоцитов, 10^9/л	1	0,9 (0,65;1,35)		1,0 (0,81;1,38)		0,648
	3	1,25 (0,95;1,83)	0,107	0,71 (0,4;1,0)	**0,010**	**<0,001**
	7	1,26 (1,13;1,83)	0,090	0,6 (0,4;0,69)	**<0,001**	**<0,001**
Лактат, ммоль/л	1	3,9 (2,63;4,8)		3,7 (2,83;4,0)		0,516
	3	2,2 (1,8;2,4)	**<0,001**	2,8 (2,05;3,5)	0,091	**0,029**
	7	1,55 (1,28;2,1)	**<0,001**	2,55 (1,95;3,0)	**0,004**	**0,0015**
АЛТ, Ед/л	1	43,4 (34,9;55,0)		44,65 (39,28;52,3)		0,884
	3	36,4 (30,8;48,25)	0,428	49,00 (38,43;57,93)	0,633	0,156
	7	42,85 (29,16;47,55)	0,380	46,3 (32,13;58,15)	0,784	0,151
АСТ, Ед/л	1	80,35(70,43;153,13)		106,4(73,25;146,63)		0,676
	3	78,0 (57,08;148,88)	0,450	117,5(88,58;149,63)	0,376	0,109
	7	81,55(51,6;103,8)	0,360	98,79(92,43;146,83)	0,839	**0,035**
ГГТ, Ед/л	1	212,1(100,75;923,0)		377,55(168,25;947,63)		0,561
	3	156,0 (96,9;527,95)	0,442	350,65(145,9;871,55)	0,526	0,177
	7	108,3 (60,23;260,08)	0,085	210,65(102,68;649,85)	0,127	0,117
Аммиак, мкмоль/л	1	80,2 (99,3;140,3)		127,45(104,15;168,93)		0,307
	3	78,3 (73,25;99,1)	**0,018**	99,7(94,73;117,85)	**0,024**	**0,026**
	7	69,3 (59,5;74,0)	**<0,001**	90,55(88,33;98,43)	**<0,001**	**<0,001**
Желчные кислоты, ммоль/л	1	74,25 (53,33;94,08)		86,85(73,45;99,18)		0,437
	3	48,4 (32,65;68,38)	0,150	77,05(67,1;85,95)	0,188	**0,030**
	7	25,7 (20,77;31,63)	**0,008**	62,3(45,13;77,35)	**0,021**	**0,0033**
Билирубин общий, мкмоль/л	1	95,15 (25,58;168,45)		116,95(72,55;276,33)		0,334
	3	113,00 (27,3;212,3)	0,883	121,75(63,83;285,55)	0,919	0,274
	7	77,15 (32,53;217,73)	0,993	148,05(69,33;200,78)	0,773	0,347

П р и м е ч а н и е: p_1 - уровень значимости различий с 1 сутками пребывания в ОРИТ; p_c - с группой сравнения; ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза ; АЛТ- аланинаминотрансфераза , АСТ – аспартатаминотрансфераза .

В результате проведения энтеральной терапии у пациентов основной группы на 3-и сутки отмечалось статистически значимое снижение уровня лактата, аммиака. К 7-м суткам регистрировалось достоверное снижение концентрации желчных кислот. У пациентов группы сравнения к 3-м суткам, помимо статистически значимого снижения уровня аммиака, было зафиксировано снижение общего белка, альбумина, лимфоцитов, что свидетельствовало о прогрессировании нутритивной недостаточности у пациентов данной группы. На 7-е сутки отмечено достоверное снижении уровня лактата, аммиака, желчных кислот, общего белка, альбумина, лимфоцитов (табл. 3). При проведении сравнительного анализа между группами у пациентов, которым проводили энтеральную терапию, концентрации общего белка, альбумина, лимфоцитов были статистически значимо выше, а уровни лактата, аммиака, желчных кислот, АСТ (на 7-е сутки) были ниже, чем у пациентов группы сравнения (табл. 3).

При прохождении теста связи чисел в 1-е сутки пребывания в ОРИТ медианные значение у пациентов основной группы и группы сравнения составили 187,5 и 179, 44 минут, соответственно (табл. 4).

Таблица 4. Время прохождения теста связи чисел

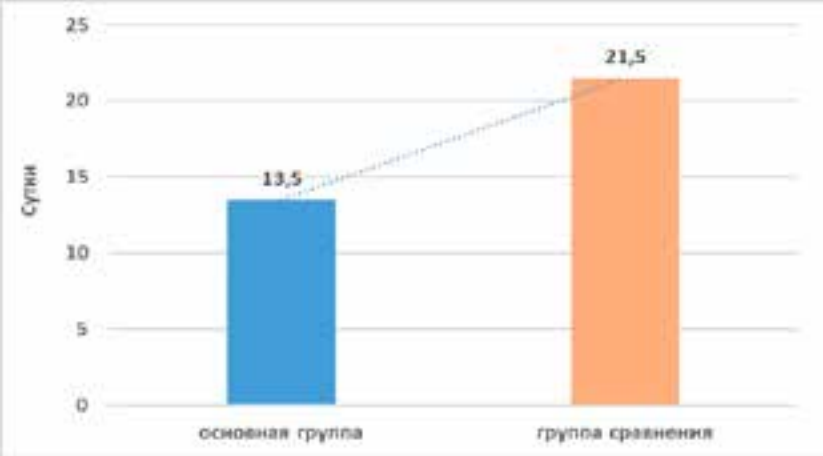
Показатель	Сутки пребывания в ОРИТ	Основная группа	*P1*	Группа сравнения	*P1*	*Pc*
Время прохождения теста связи чисел, мин	1	187,5(145,25;222,75)		179,44(133,5;227,6)		0,690
	3	109,5(94,25;141,8)	**<0,001**	163,5(112,25;200,3)	**0,173**	**0,011**
	7	88,5(81,25;93,5)	**<0,001**	122,5(100,5;169,8)	**0,004**	**<0,001**

В результате применения СЭР, обладающего как выраженными детоксикационными свойствами, так и способностью восстанавливать кишечный барьер, у пациентов основной группы к 7-м суткам пребывания в ОРИТ регистрировалась I, II степени печеночной энцефалопатии, в то время, как у пациентов группы сравнения, несмотря на положительные результаты, зафиксированные на 7-е сутки динамического наблюдения, описывалась III степень печеночной энцефалопатии. Данный эффект, по всей видимости, обусловлен снижением численности аммиакпродуцирующей флоры и постепенной нормализацией нормальной симбиотической нагрузки.

Кроме того, в процессе наблюдения было выявлено, что у пациентов основной группы антибиотикорезистентность, в том числе и к внутрибольничной флоре, выработалась в 27,8% случаев, в то время, как в группе сравнения устойчивость к антибактериальным препаратам наблюдалась у 65,9% пациентов.

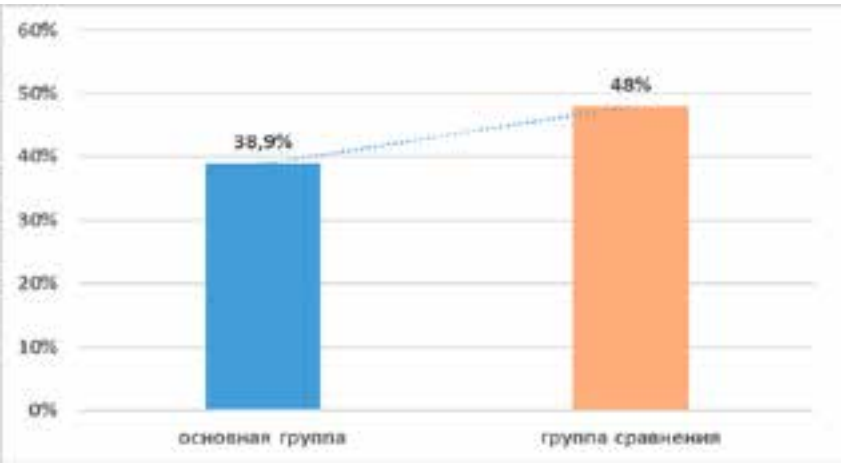
Благодаря проведению энтеральной терапии у пациентов с циррозом печени удалось сократить сроки пребывания в ОРИТ (p=0,031). Так, в основной группе средняя продолжительность лечения в условиях ОРИТ составила 13,5 (10;19,75) койко-дней, в группе сравнения – 21,5 (12,5;37) койко-дней (Рис.1).

Рисунок 1. Сроки пребывания в ОРИТ



При оценке уровня летальности установлено, что в группе, где проводилась энтеральная терапия, данный показатель составил 38,9% (n=7), в группе сравнения – 48% (n=44) (Рис. 2).

Рисунок 2. Уровень летальности в группах



Заключение

Включение в комплекс лечебных мероприятий энтеральной терапии показало свою эффективность, что было выражено в статистически значимом снижении уровней лактата, аммиака, желчных кислот, при этом, концентрации общего белка, альбумина и лимфоцитов, напротив значительно повысились, хоть и не достигали нормальных значений. Предложенная схема способствовала более быстрому регрессу явлений печеночной энцефалопатии, снижению уровня летальности в 1,23 раза, по сравнению с группой, в которой проводилась стандартная консервативная терапия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Жаркова М.С., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению фиброза и цирроза печени и их осложнений // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. - 2021. - Т.31. - №6. - С.56–102. [Ivashkin VT, Maevskaya MV, Zharkova MS, et al. Clinical recommendations of the Russian scientific liver society and Russian gastroenterological association on diagnosis and treatment of liver fibrosis, cirrhosis and their complications. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2021;31(6):56–102. (In Russ).] doi: 10.22416/1382- 4376-2021-31-6-56-102

2. Силачева М.В., Грищенко Е. Г., Петрова М. М., и др. Цирроз печени и рак желудка: современное состояние проблемы // *Современные проблемы науки и образования*. - 2015. - №3. – С.187. [Silacheva MV, Grishchenko EG, Petrova MM, et al. Cirrhosis and gastric cancer: current state of problem. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015;(3):187. (In Russ).]

3. Sharma A, Nagalli S. Chronic Liver Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. 2023 Jul 3. PMID: 32119484

4. Жмуров Д.В., Парфентева М.А., Семенова Ю.В., Рубцов Д.А. Цирроз печени // *Colloquium-Journal*. - 2020. - №11-3. – С. 40. [Zhmurov DV, Parfenteva MA, Semenova YuV, Rubtsov DA. Hepatic cirrhosis. *Colloquium-Journal*. 2020;(11-3): 40. (In Russ).]

5. Brandl K, Kumar V, Eckmann L. Gut-liver axis at the frontier of host-microbial interactions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017;312(5):G413-G419. doi: 10.1152/ajpgi.00361.2016

6. den Besten G, Lange K, Havinga R, et al. Gut-derived short-chain fatty acids are vividly assimilated into host carbohydrates and lipids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013;305(12): G900–G910. doi: 10.1152/ajpgi.00265.2013

7. Grosicki GJ, Fielding RA, Lustgarten MS. Gut Microbiota Contribute to Age-Related Changes in Skeletal Muscle Size, Composition, and Function: Biological Basis for a Gut-Muscle Axis. *Calcif Tissue Int*. 2018;102(4):433–442. doi: 10.1007/s00223-017-0345-5

8. Brahe LK, Astrup A, Larsen LH. Is butyrate the link between diet, intestinal microbiota and obesity-related metabolic diseases? *Obes Rev*. 2013;14(12):950-959. doi: 10.1111/obr.12068

9. Wang HB, Wang PY, Wang X, et al. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. *Dig Dis Sci.* 2012;57(12):3126-3135. doi: 10.1007/s10620-012-2259-4

10. Willemsen LE, Koetsier MA, van Deventer SJ, van Tol EA. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E(1) and E(2) production by intestinal myofibroblasts. *Gut.* 2003;52(10):1442-1447. doi: 10.1136/gut.52.10.1442

11. Usami M, Miyoshi M, Yamashita H. Gut microbiota and host metabolism in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(41):11597-11608. doi: 10.3748/wjg.v21.i41.11597

12. Minemura M, Shimizu Y. Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2015;21(6):1691-1702. doi: 10.3748/wjg.v21.i6.1691

13. Riordan SM, Williams R. The intestinal flora and bacterial infection in cirrhosis. *J Hepatol*. 2006;45(5):744-757. doi: 10.1016/j.jhep.2006.08.001

14. Garcovich M, Zocco MA, Roccarina D, et al. Prevention and treatment of hepatic encephalopathy: focusing on gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2012;18(46):6693-7600. doi: 10.3748/wjg.v18.i46.6693

15. Fukui H. Gut-liver axis in liver cirrhosis: How to manage leaky gut and endotoxemia. *World J Hepatol*. 2015;7(3):425-442. doi: 10.4254/wjh.v7.i3.425

16. Quigley EM, Quera R. Small intestinal bacterial overgrowth: roles of antibiotics, prebiotics, and probiotics. *Gastroenterology*. 2006;130(2 Suppl 1):S78-S90. doi: 10.1053/j.gastro.2005.11.046

17. Quigley EM, Stanton C, Murphy EF. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications. *J Hepatol*. 2013;58(5) 1020-1027. doi: 10.1016/j.jhep.2012.11.023

18. Чихачёва Е., Селивёрстов П., Тетерина Л. и др. Микробиоценоз кишечника при хронических заболеваниях печени: диагностика и лечение // Врач. - 2011. - № 7. - С. 18–21.

19. Huang W, Kong D. The intestinal microbiota as a therapeutic target in the treatment of NAFLD and ALD. *Biomed Pharmacother*. 2021;135:111235. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111235

20. Dubinkina VB, Tyakht AV, Odintsova VY, et al. Links of gut microbiota composition with alcohol dependence syndrome and alcoholic liver disease. *Microbiome*. 2017;5(1):141. doi:10.1186/s40168-017-0359-2

21. Brenner DA, Paik YH, Schnabl B. Role of Gut Microbiota in Liver Disease. *J Clin Gastroenterol.* 2015; 49(1 Suppl 1):S25-27. doi: 10.1097/MCG.0000000000000391

22. Киселев В.В., Петриков С.С., Жигалова М.С., и др. Восстановление пропульсивной функции кишечника у пациентов с тяжелым острым панкреатитом в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии // *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. - 2023. – Т.12. - №2. - С. 210–216. [Kiselev VV, Petrikov SS, Zhigalova MS, et al. Restoration of Intestinal Propulsion in Patients with Severe Acute Pancreatitis in the Conditions of the Resuscitation and Intensive Care Unit. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2023;12(2):210-216. (In Russ).] doi: 10.23934/2223-9022-2023-12-2-210-216

23. Киселев В.В., Жигалова М.С., Тетерин Ю.С., и др. Диагностические критерии степени кишечной недостаточности у больных с тяжелым острым панкреатитом // *Высокотехнологическая*

медицина. - 2023. – Т.10. - №2. – С. 43-58. [Kiselev VV, Zhigalova MS, Teterin YuS, et al. Diagnostic criteria for the degree of intestinal failure in patients with severe acute pancreatitis. *Vysokotekhnologicheskaya meditsina*. 2023; 10(2): 43-58. (In Russ).] doi: 10.52090/2542-1646_2023_10_2_43

24. Рогаль М.Л., Ярцев П.А., Жигалова М.С., и др. Энтеральная терапия у пациентов с закрытой травмой живота (предварительные результаты) // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. - 2023. - №11. – С.63-71. [Rogal ML, Yartsev PA, Zhigalova MS, et al. Enteral therapy in patients with blunt abdominal trauma. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zurnal im. N.I. Pirogova.* 2023;(11):63-71. (In Russ).] doi: 10.17116/hirurgia202311163

25. Поцхверия М.М., Маткевич В.А., Гольдфарб Ю.С., и др. Программа энтеральной коррекции нарушений гомеостаза и ее влияние на кишечную проницаемость при острых отравлениях // *Трансплантология*. - 2022. – Т.14, №1. – С. 45–57. [Potskhveriya MM, Matkevich VA, Gol'dfarb YuS, et al. The program of enteral correction of homeostasis disordersand its effect on intestinal permeability in acute poisoning. *Transplantologiya*. 2022;14(1):45–57. (In Russ).] doi: 10.23873/2074-0506-2022-14-1-45-57

26. Баклыкова Н.М. Состав и приготовление сред для внутрикишечного введения при перитоните: методические рекомендации МЗ РСФСР. Москва; 1986. [Baklykova NM. Sostav i prigotovlenie sred dlya vnutrikishechnogo vvedeniya pri peritonite: metodicheskie rekomendatsii MZ RSFSR. Moscow; 1986. (In Russ).]

27. Патент RU 2190412 C2. опубл. 10.10.2002. Бюл. № 28. Маткевич В.А., Киселев В.В., Сыромятникова Е.Д., и др. Способ детоксикации организма. [Patent RU 2190412 S2. opubl. 10.10.2002. Byul. № 28. Matkevich VA, Kiselev VV, Syromyatnikova ED, et al. Sposob detoksikatsii organizma (In Russ).] Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2190412C2/ru Ссылка активна на 20/02/2024.

28. Стец В.В., Крюков Е.В., Шестопалов А.Е. Современные подходы к интенсивной терапии абдоминального сепсиса // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. - 2017. - № 6. – С. 106-115. [Stets VV, Kryukov EV, Shestopalov AE. Modern approaches to intensive therapy of abdominal sepsis. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie*. 2017;(6):106-115. (In Russ).]

29. Roth E, Oehler R, Manhart N, et al. Regulative potential of glutamine--relation to glutathione metabolism. *Nutrition.* 2002;18(3):217-221. doi: 10.1016/s0899-9007(01)00797-3

30. Corrêa RO, Castro PR, Fachi JL, et al. Inulin diet uncovers complex diet-microbiota-immune cell interactions remodeling the gut epithelium. *Microbiome*. 2023;11(1):90. doi: 10.1186/s40168-023-01520-2

31. Кислякова Е.А., Тропская Н.С., Попова Т.С. Энтеральное введение трибутирина как компонента нутритивной поддержки в коррекции нарушений электрической активности тонкой кишки при экспериментальной эндотоксемии // *Биомедицина*. - 2015. - №4. – С.77-83. [Kislyakova EA, Tropskaya NS, Popova TS. Enteral administration of tributyrin as an element of nutritional support in the treatment of disruption of the intestinal electrical activity during experimental endotoxemia. *Biomeditsina*. 2015;(4):77-83. (In Russ).]

32. Cai J, Su W, Chen X, Zheng H. Advances in the study of selenium and human intestinal bacteria. *Front Nutr*. 2022;9:1059358. doi: 10.3389/fnut.2022.1059358

33. Sauer AK, Grabrucker AM. Zinc Deficiency During Pregnancy Leads to Altered Microbiome and Elevated Inflammatory Markers in Mice. *Front Neurosci*. 2019;13:1295. doi: 10.3389/fnins.2019.01295 eCollection 2019.

34. Хорошилов И.Е. Энтеральное питание как метод профилактики и лечения недостаточности питания // *Гастроэнтерология*. - 2008. – №2. – С. 49–53. [Khoroshilov IE. Enteral'noe pitanie kak metod profilaktiki i lecheniya nedostatochnosti pitaniya. *Gastroenterologiya*. 2008;(2): 49–53. (In Russ).] doi: 10.23873/2074-0506-2022-14-1-45-57

АНАТОМИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У СИБСОВ МУЖСКОГО ПОЛА С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

И.Х. Камолов, С.П. Семитко, И.Е. Чернышева, Д.Г. Иоселиани

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Целью нашего исследования было изучение анатомии коронарных артерий, характера и степени выраженности поражения коронарного русла у пар сибсов мужского пола, страдающих ИБС, в сравнении с контрольной группой пар пациентов, не имеющих близкого родства.

Поиск и отбор пациентов проводился с использованием аппаратно-программного комплекса «Димол», разработанного совместно с НИЦ «Курчатовский институт». Данный комплекс содержит архив коронарографий и чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) в электронных историях болезни пациентов, проходивших лечение в Научно-практическом центре интервенционной кардиоангиологии Сеченовского Университета в период с 2000 года по настоящее время, и включает более 73 тысяч исследований. С помощью информационно-поисковой системы комплекса «Димол» была сформирована достоверная группа пар сибсов мужского пола с горизонтальной наследственной отягощенностью по ИБС (по линии родных братьев) и контрольная группа пар пациентов, образованная путем замены в случайном порядке младших братьев между собой. Тем самым, в отличие от основной группы, в контрольных парах отсутствовала родственная связь. Критерием включения в исследование двух сибсов мужского пола от общих родителей была подтвержденная ишемическая болезнь сердца с наличием значимого стенозирования одной и более коронарной артерии по данным селективной коронарографии или МСКТ КАГ у одного из братьев.

Коронарные ангиограммы пациентов оценивались в случайном порядке двумя опытными рентгенэндоваскулярными специалистами. Для обеспечения объективности оценки КАГ, персональные данные сибсов были закодированы. Для оценки анатомического фенотипа коронарного русла в описании эпикардиальных коронарных артерии были выделены 25 коронарных сегмента в соответствии с классификацией SyntaxScore. Методика оценки данных коронароангиографии включала анализ и сопоставление каждого из 25 сегментов по степени анатомической идентичности и по вовлеченности в атеросклеротический процесс. Для реализации поставленной научной задачи нами были предложены оригинальные термины «анатомическая идентичность» (АнИ) и «атеросклеротическая идентичность» (АтИ). Для

оценки анатомической идентичности (АнИ) был введен двоичный код, где «0» – отсутствие анатомической идентичности сегмента, «1» – наличие анатомической идентичности сегмента (по геометрии сегмента, по наличию и количеству боковых ветвей). Анализ идентичности атеросклеротического поражения проводился также при помощи двоичного кода, где «0» – обозначало отсутствие значимого стеноза в данном сегменте, «1» – обозначало наличие стеноза ≥50% в данном сегменте. Для объективной количественной оценки степени АнИ и АтИ сибсов были введены понятия индекса анатомической (ИАнИ) и индекса атеросклеротической идентичности (ИАтИ). За индекс анатомической идентичности (ИАнИ) мы принимали – отношение суммы анатомически идентичных сегментов к общему количеству сегментов равному 25 (по классификации SyntaxScore). Например, при наличии у сибсов 22 анатомически идентичных сегментов из 25 возможных, индекс анатомической идентичности у данной пары сибсов составит отношение 22/25 – или 0,88. В случае полного совпадения анатомии сегментов ИАнИ будет равен единице. За индекс атеросклеротической идентичности (ИАтИ) мы принимали – отношение суммы идентично пораженных сегментов к общему количеству сегментов по классификации SyntaxScore – к 25. Например, при наличии у сибсов 23 идентично пораженных сегментов из 25 возможных, ИАтИ данной пары сибсов составит отношение 23/25 – или 0,92. Тип коронарного кровоснабжения определялся как праводоминантный, сбалансированный и леводоминантный. Поражение одной артерии классифицировалось как односсудистое, двух и более – как многососудистое.

В исследование вошли 86 сибса мужского пола с горизонтальной наследственной отягощенностью по ИБС. Данная группа сибсов состояла из 43 пары пациентов, каждая из которых была образована старшим и младшим братом. В каждой паре сибсов был проведен анализ клинико-анамнестических и ангиографических данных, рассчитаны показатели ИАнИ и ИАтИ, определены локализации идентичных поражений коронарных артерий. Для подтверждения влияния в группе сибсов фактора горизонтальной наследственной отягощенности на особенности анатомии и атеросклеротического процесса в коронарных артериях, был проведен сравнительный анализ клинико-анамнестических и ангиографических данных контрольных пар, состоящих из старших братьев и пациентов, отобранных в случайном порядке из подгруппы младших братьев без родственной связи.

Согласно полученным данным, подгруппа «старшие братья» была ожидаемо старше (M±SD: 60,8±9,6 (57,9-63,8) и 55,3±9,6 (52,4-58,3), p=0,009). При сравнении остальных клинико-анамнестических данных статистически значимой разницы между братьями не обнаружено.

Средний показатель ИАнИ (Таблица 1) в парах родных братьев составил 0,92 (0,88-0,96), что достоверно больше данного показателя в контрольных парах, сформированных из старших братьев и контрольных неродственных младших сибсов (0,84 (0,8-0,88), p<0,001). Эти результаты

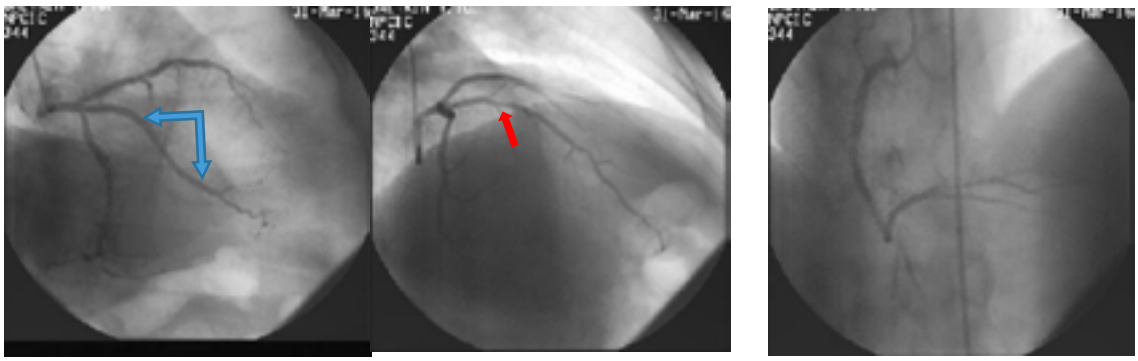
подтверждают высокую анатомическую идентичность (по геометрии сегментов, по наличию и количеству боковых ветвей) в парах сибсов (Фото 1). Более того, ИАтИ был значимо выше при сравнении пар сибсов, чем при сравнении контрольных пар (0,88 (0,88-0,92) и 0,8 (0,72-0,86), p<0,001). Высокий показатель ИАтИ в парах братьев указывает на высокую идентичность поражений коронарных артерий в исследуемой группе. Подробный анализ локализации коронарного атеросклероза в парах сибсов позволил нам определить сегменты коронарного русла, в которых атеросклеротический процесс имеет максимально высокую наследственную детерминанту.

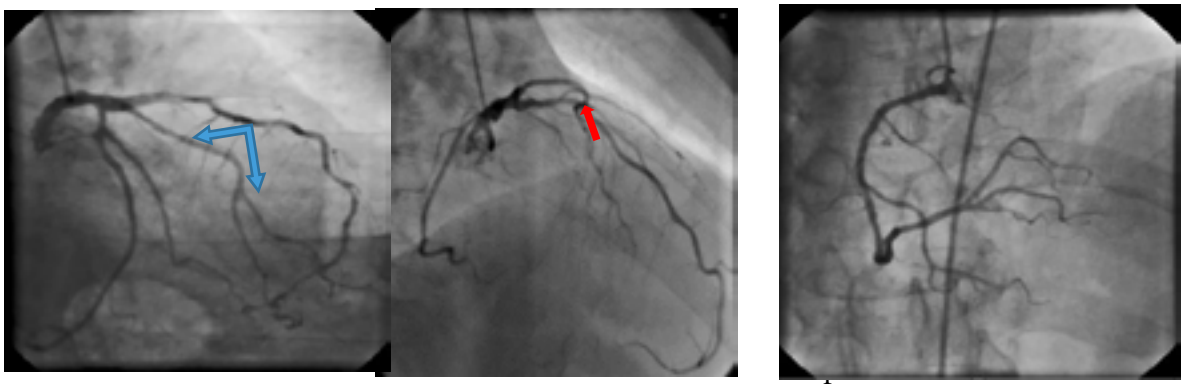
Таблица 1. Сравнение индексов атеросклеротической и анатомической идентичностей между парами исследуемых групп

Показатель	Пара старший брат - младший брат	Пара старший брат -контрольный пациент	p
ИАнИ, Me (Q1-Q3)	0,92 (0,88-0,96)	0,84 (0,8-0,88)	<0,001*
ИАтИ, Me (Q1-Q3)	0,88 (0,88-0,92)	0,8 (0,72-0,86)	<0,001

**- статистически значимая разница (p<0,05)*

Фото1 – Сравнение КАГ пары сибсов





- *Хорошо развитая интермедиарная ветвь;* *Стеноз в пр/3 ПМЖВ*

Для того чтобы ответить на вопрос какие сегменты коронарных артерий наиболее «уязвимы» для атеросклеротического поражения в парах сибсов и в контрольных парах, нами были проанализирована частота вовлеченности в атеросклероз всех 25 сегментов коронарных артерий в основной и в контрольных группах. Кроме того, для количественной оценки посегментной симметричности атеросклеротического поражения у исследуемых пар мы рассчитывали показатель степени «согласия» - каппа Коэна (к), интерпретация значений которого в диапазоне 0,00–0,20 означало «слабое согласие», 0,21–0,40 — «среднее согласие», 0,41–0,60 — «умеренное согласие», 0,61–0,80 — «хорошее согласие», 0,81–1,00 — «отличное согласие». По результатам анализа коронарных артерий родных братьев (Таблица 2, Рисунок 1) было установлено для правой коронарной артерии «хорошее», статистически значимое согласие для сегмента № 1 - проксимальной трети ПКА (к=0,739, p<0,001) и для сегмента № 2 - средней трети ПКА (к=0,714, p<0,001), а так же отмечено «умеренное» значимое согласие при анализе сегментов № 3, 4 – дистальной трети ПКА (к=0,440, p=0,004) и ЗМЖВ (к=0,422, p=0,005). Для левой коронарной артерии установлено «отличное», статистически значимое согласие для сегмента № 5 - ствола ЛКА (к=0,807, p<0,001), «хорошее» значимое согласие при анализе сегментов № 6, 7 и 10 - проксимальной трети ПМЖВ (к=0,718, p<0,001), средней трети ПМЖВ (к=0,672, p<0,001) и ДВ2 (к=0,656, p<0,001) соответственно, «умеренное» значимое согласие при анализе дистальной трети ПМЖВ (к=0,482, p<0,001). Согласие было незначимым при анализе ОВ как в целом (p=0,975), так при анализе сегментов № 11 и 13 - пр/3 ОВ (p=0,795) и дист/3 ОВ (p=0,549), а также сегментов 12 и 12а - ВТК1 (p=0,224) и ИВ (p=0,692) соответственно.

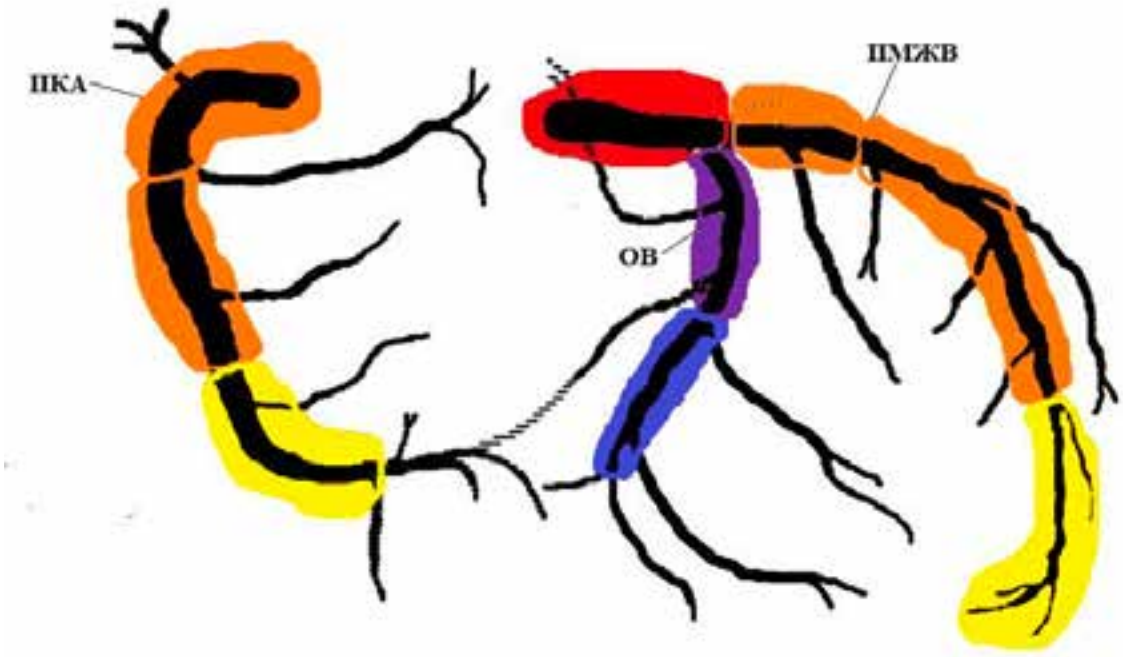
Таблица 3. Частота согласия атеросклеротического поражения сегментов коронарных артерий в парах братьев

№ сегмента	Название сегмента	Старший брат (n=43)	Младший брат (n=43)	Частота совпадений у сибсов	к	Согласие	P
1	пр/3 ПКА, n(%)	10 (23,3)	10 (23,3)	8	0,739	хорошее	<0,001*
2	ср/3 ПКА, n(%)	19 (44,2)	17 (39,5)	15	0,714	хорошее	<0,001*
3	дист/3 ПКА, n(%)	8 (18,6)	10 (23,2)	5	0,440	умеренное	0,004*
4	ЗМЖВ, n(%)	7 (16,3)	5 (11,6)	3	0,422	умеренное	0,005*
5	ствол ЛКА, n(%)	7 (16,3)	5 (11,6)	5	0,807	отличное	<0,001*
6	пр/3 ПМЖВ, n(%)	25 (58,1)	23 (53,4)	21	0,718	хорошее	<0,001*
7	ср/3 ПМЖВ, n(%)	19 (44,2)	20 (46,5)	16	0,672	хорошее	<0,001*
8	дист/3 ПМЖВ, n(%)	3 (7)	1 (2,7)	1	0,482	умеренное	<0,001*
9	ДВ 1 поражена, n(%)	11 (25,6)	9 (21)	3	0,091	слабое	0,549
10	ДВ 2 поражена, n(%)	2 (4,7)	1	1	0,656	хорошее	<0,001*
11	пр/3 ОВ, n(%)	11 (25,6)	9 (21)	2	-0,039	отсутствует	0,795
12	ИВ, n(%)	3 (7)	2 (4,7)	0	-0,059	отсутствует	0,692
12a	ВТК 1, n(%)	5 (11,6)	3 (7)	1	0,178	слабое	0,224
13	дист/3 ОВ, n(%)	11 (25,6)	9	3	0,091	слабое	0,549

**-статистически значимая разница (p<0,05)*

Рисунок 1. Схематическое изображение частоты согласия атеросклеротического поражения сегментов коронарных артерий в парах братьев

показатель каппа Коэна (к)	< 0 – отсутствие согласия	0,00-0,20 слабое согласие	0,21–0,40 — среднее	0,41–0,60 — умеренное	0,61–0,80 — хорошее	0,81–1,00 — отличное
Цветовой индикатор						



Для подтверждения влияния фактора горизонтальной наследственной отягощенности на особенности атеросклеротического процесса коронарных артерий в парах сибсов, был проведен сходный сравнительный анализ ангиографических данных в контрольных парах (старший брат + контрольный неродственный младший брат), в которых отсутствовал фактор наследственной связи. Согласно результатам анализа (Таблица 3), в группе контрольных пар нами не было обнаружено статистически значимого согласия в поражении сегментов коронарных артерий.

Таблица 3. Частота согласия атеросклеротического поражения сегментов коронарных артерий в группе контрольных пар

**- статистически значимая разница (p<0,05)*

№ сегмента	Название сегмента	Старший брат (n=43)	Контрольная группа (n=43)	Частота совпадений	к	Согласие	P
1	пр/3 ПКА, n(%)	10 (23,3)	10 (23,3)	1	-0,173	отсутствует	0,257
2	ср/3 ПКА, n(%)	19 (44,2)	15 (34,8)	8	0,132	слабое	0,377
3	дист/3 ПКА, n(%)	8 (18,6)	10 (23,2)	1	-0,122	отсутствует	0,425
4	ЗМЖВ, n(%)	7 (16,3)	4 (9,3)	1	0,076	слабое	0,620
5	Ствол ЛКА, n(%)	7 (16,3)	5 (11,6)	1	0,036	слабое	0,811
6	пр/3 ПМЖВ, n(%)	25 (58,1)	21 (48,8)	13	0,075	слабое	0,625
7	ср/3 ПМЖВ, n(%)	19 (44,2)	20 (46,5)	8	-0,079	отсутствует	0,606
8	дист/3 ПМЖВ, n(%)	3 (7)	1 (2,3)	0	-0,036	отсутствует	0,782
9	ДВ 1, n(%)	11 (25,6)	9 (21)	3	0,091	слабое	0,549
10	ДВ 2, n(%)	2 (4,7)	1 (2,3)	0	-0,032	отсутствует	0,823
11	пр/3ОВ, n(%)	11 (25,6)	9 (21)	2	-0,039	отсутствует	0,795
12	ИВ, n(%)	3 (7)	2 (4,7)	0	-0,059	отсутствует	0,692
12a	ВТК 1, n(%)	5 (11,6)	3 (7)	1	0,178	слабое	0,224
13	дист/3 ОВ, n(%)	11 (25,6)	9 (21)	3	0,091	слабое	0,549

Таким образом, наши данные обнаруживают в парах сибсов наличие генетически обусловленного и статистически значимого совпадения атеросклеротического поражения целого ряда сегментов коронарных артерий, с максимально высоким согласием в стволе ЛКА и в проксимальных сегментах основных ветвей коронарного русла: ПМЖВ и ПКА. В группе

контрольных пар (старший брат + контрольный пациент) подобные закономерности нами выявлены не были.

У сибсов с горизонтальной наследственной отягощенностью по ИБС по линии родного брата средние индексы анатомической и атеросклеротической идентичностей достоверно выше по сравнению с контрольными парами. В парах сибсов отмечается максимально высокая и достоверная вероятность идентичного развития коронарного атеросклероза в стволе ЛКА и в проксимальных сегментах ПМЖВ и ПКА. Необходимы дальнейшие исследования для определения профилактических стратегий направленных на раннее выявление и профилактику коронарного атеросклероза в группе родных братьев, имеющих признаки отягощенной наследственности.

МИКРОВАСКУЛЯРНАЯ ДИСФУНКЦИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА

К.В. Копьева

Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, Россия

Введение. Коронарная микроваскулярная дисфункция (КМД) проявляется структурным и функциональным ремоделированием коронарной микроциркуляции и играет важную роль в патогенезе обструктивных и необструктивных коронарных синдромов, а также заболеваний миокарда, в том числе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) [1]. Несмотря на последние достижения в области диагностики, КМД часто недооценивается в клинической практике, хотя работы последних лет показывают, что наличие КМД является ранним маркером сердечно-сосудистых заболеваний и связано с неблагоприятными клиническими исходами [2, 3]. Несмотря на неопровержимые доказательства, подтверждающие наличие КМД при СНсФВ, остается открытым вопрос о патогенезе развития КМД и ее роли в прогрессировании СНсФВ, в частности, у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий [4, 5].

Цель. Оценить основные клинико-демографические, протеомные и инструментальные характеристики коронарной микрососудистой дисфункции (КМД) и определить ее прогностическую роль в прогрессировании хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий в течение 12 месяцев проспективного наблюдения.

Материалы и методы. В исследование последовательно было включено 118 пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий и сохраненной ФВ ЛЖ (62 [59; 64]%). Необструктивное поражение коронарных артерий диагностировалось с помощью мультиспиральной компьютерной томографии. Уровни биомаркеров в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. По результатам динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии определяли миокардиальный кровоток в покое (rest-MBF, мл/мин/г), миокардиальный кровоток при нагрузке (мл/мин/г) (stress-MBF, на фону введения стресс-агента АТФ), резерв коронарного кровотока (MFR) рассчитывали по формуле = stress-MBF/rest-MBF. В отсутствии обструктивного поражения коронарных артерий, КМД определяли как глобальное снижение резерва миокардиального кровотока (MFR) ≤2. С помощью двухмерной трансторакальной эхокардиографии определяли параметры гемодинамики, диастолической дисфункции ЛЖ и миокардиального стресса. Глобальная продольная деформация ЛЖ (GLS) оценивалась с помощью 2D-speckle tracking. Вариабельность

сердечного ритма (ВРС) оценивалась посредством суточного мониторирования ЭКГ. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Рисунок 1. Дизайн исследования

Результаты. Пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия КМД: в группу 1 вошли пациенты с КМД (n=45), в группу 2 - больные без нее (n=73). Параметры миокардиального кровотока значимо различались между группами и представлены на рис. 2.

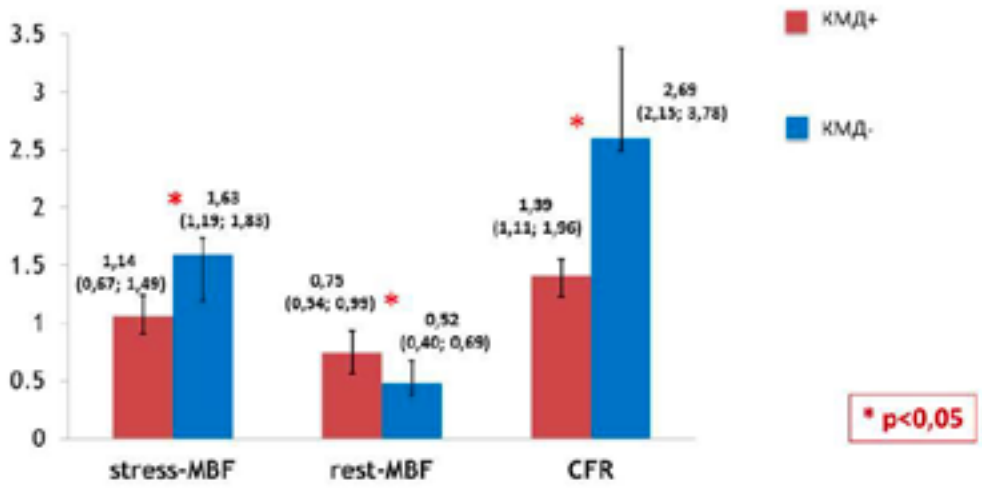


Рисунок 2. Параметры миокардиального кровотока и резерва коронарного кровотока в зависимости от наличия КМД

Примечание. MFR – резерв миокардиального кровотока, stress-MBF – миокардиальный кровоток при нагрузке, rest-MBF - миокардиальный кровоток в покое.

СНсФВ в группе 1 диагностировалась значительно чаще (p<0,001), чем в группе 2 (34,3% vs. 80,9% случаев). Пациенты с КМД чаще в анамнезе имели сахарный диабет 2 типа и являлись курильщиками. По остальным клинико-демографическим параметрам группы были сопоставимы (Таблица 1).

Значения латерального e' были ниже на 35% в группе 1 (p=0,009), чем в группе 2. Пиковая скорость трикуспидальной регургитации превышала таковой показатель на 12% (p=0,011), отношение E/e' - на 21,4 % (p=0,041) и индексированного объема левого предсердия - на 51,2% (p=0,038) у пациентов с КМД по сравнению с больными без нее. GLS была на 25,1% (p<0,001) ниже в группе 1, чем в группе 2. Значения параметров систолического и диастолического миокардиального стресса были выше на 6,3% (p=0,032) и на 6,8% (p=0,021) соответственно в группе 1 по сравнению с группой 2. Артериально-миокардиальная жесткость была достоверно (p=0,011) выше у пациентов в группе 1 по сравнению с пациентами группы 2 (Таблица 1). По данным суточного мониторирования ЭКГ у пациентов с КМД выявлено снижение общей ВРС и параметров парасимпатических влияний (Таблица 1).

Таблица 1. Характеристика пациентов на момент включение в исследование

Параметр	Группа 1/КМД+; n=432	Группа 2/КМД-; n=75	p-value
Возраст, годы	61 (56; 68,5)	61,5 (59; 67,5)	0,123
Мужчины, n (%)	26 (61,9)	44 (62,8)	0,919
ИМТ, кг/м^2	29,7 (27,6; 32,0)	30,1 (27,7; 34,1)	0,254
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	11 (26,2)	5 (7,1)	0,003
ХОБЛ, n (%)	6 (14,3)	13 (18,6)	0,718
СНсФВ, n (%)	34 (80,9)	24 (34,3)	<0,001
Курение, n (%)	11 (26,2)	4 (5,7)	0,012
СКФ (мл/мин/1,73 кв.м.)	76,8 (63,0; 81,0)	78,0 (64,0; 87,0)	0,476
Общий холестерин, ммоль/л	4,65 (3,67; 5,25)	4,34 (3,54; 4,98)	0,932
Гемоглобин, г/дл	134 (121; 143)	137 (128; 142)	0,464
ФВ ЛЖ, %	62 (58,5; 65,0)	63 (61; 66)	0,183
КСР, мм	40 (38; 43)	38,5 (36,5; 41,5)	0,524
КДР, мм	51,0 (48,7; 53,0)	50,5 (47,5; 52,5)	0,307
Lateral e′, см/с	5,56 (4,78; 6,45)	8,56 (8,01; 9,14)	0,008
ПСТР, м/с	2,98 (2,95; 3,01)	2,61 (2,3; 2,76)	0,009
Отношение E/e’	14 (13,5; 15,0)	11 (10; 12)	0,041
ЛПОИ, мл/кв.м.	38,3 (35,7; 51,1)	29,7 (27,5; 47,9)	0,038
GLS, %	−14,7 (−12,9; −1,.9)	−20,9 (16,1; 21,6)	0,005
МСд, дин/см^2	157,48 (142,06; 164,70)	142,15 (133,31; 149,97)	0,028
МСс, дин/см^2	178,18 (143,11; 187,67)	152,48 (134,21; 162,50)	0,023
Ea, мм.рт.ст./мл	0,60 (0,55; 0,92)	0,56 (0,53; 0,61)	0,021
Es, мм.рт.ст./мл	2,30 (1,64; 3,0)	2,75 (2,55; 3,16)	0,018
SDNNidx, мс	56 (52; 71)	64 (55; 183)	0,039
rMSSD, мс	23 (12; 31)	40 (32; 328)	0,001

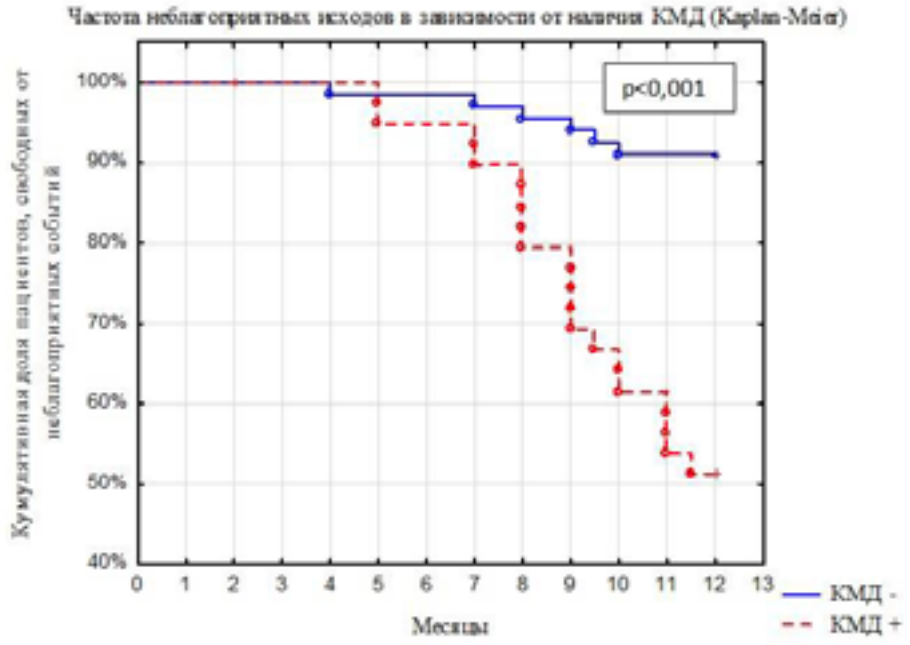
SDANN, мс	53 (49; 73)	61 (57; 145)	0,006
pNN50, %	2,8 (1,2; 9,50)	13,9 (5,1; 61,5)	0,002
HF, мс^2	347 (214; 509)	514 (371; 627)	0,016

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, КСР – конечно-систолический объем, КДР – конечно-диастолический размер, ПСТР – пиковая скорость трикуспидальной регургитации, ЛПОИ – индексированный объем левого предсердия, МСд – миокардиальный стресс в диастолу, МСс – миокардиальный стресс в систолу, Ea – сердечно-сосудистое сопротивление, Es – конечная систолическая эластичность, SDNNidx - среднее значение стандартных отклонений NN-интервалов, вычисленных по 5-минутным промежуткам в указанный период записи, rMSSD - квадратный корень из средней суммы квадратов разностей между соседними NN-интервалами, HF - мощность спектра в диапазоне высоких (0,15 - 0,4 Гц) частот (парасимпатические влияния на сердце), pNN50 - значение NN50, деленное на общее число NN интервалов анализируемого периода мониторирования.

У больных с КМД концентрации СРБ превышали таковой показатель в 1,8 раза (p=0,011), уровни интерлейкина-10 были ниже на 21,7% (p=0,048), а интерлейкина-1β - выше в 2,7 раза (p=0,046) по сравнению с пациентами без КМД. Уровни NT-proBNP были выше в 2,6 раза (p=0,004), растворимого ST2 на 18,1% (p<0,001), тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 в 2,3 раза (p=0,011), матриксной металлопротеиназы-9 в 1,9 раза (p=0,012), эндотелина-1 - выше в 1,9 раз (p=0,012), VEGF - выше в 2,16 раз (p=0,008) в группе 1 по сравнению с больными в группе 2. Значения катестатина были снижены в 1,7 раз (p=0,018) в группе 1 по сравнению в группой 2. Концентрации тетранектина, копептина, FGF-23 значимо не различались между группами. В течение 12 месяцев наблюдения у 25 пациентов зарегистрированы неблагоприятные события (рис. 3).

Рисунок 3. Частота наступления неблагоприятных событий в течение 12 месяцев наблюдения

По данным анализа по Каплану-Мейера установлено, что частота развития и прогрессирования СНсФВ была достоверно (p<0,001) выше у больных с КМД (45,2%, n=19), чем у больных без нее (8,6%,n=6) (рис.4).



No.at risk	Месяцы наблюдения											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
КМД-	70	70	70	69	69	69	68	67	66	64	64	64
КМД+	42	42	42	42	41	40	38	34	30	27	24	23

Рисунок 4. Частота наступления неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в течение 12 месяцев наблюдения в зависимости от наличия КМД

Заключение. Установлено, наличие КМД ассоциировалось с более выраженными проявлениями диастолической дисфункцией, миокардиального стресса и снижением глобальной продольной деформации ЛЖ, а также гиперэкспрессией биомаркеров фиброза и воспаления, эндотелиальной дисфункции и гипоэкспрессией кардиопротективного гормона – катестатина, а также снижение парасимпатических влияний и общей вариабельности ритма сердца. Наличие КМД ассоциировалось с более высокой частотой развития и прогрессирования сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса.

Согласно полученным данным нарушение коронарного кровоснабжения на уровне микроциркуляции за счет развития периваскулярного фиброза является одним из ключевых механизмов развития сердечной недостаточности у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий и сохраненной фракцией выброса левого желудочка, что в свою очередь, обусловлено хроническим воспалением и прогрессированием эндотелиальной дисфункции. Данные процессы приводят к снижению доступности оксида азота и увеличению диастолической

жесткости, впоследствии приводя к перегрузке сердечной мышцы давлением и дальнейшему прогрессированию коронарной микроваскулярной дисфункции, запуская «патологический круг» изменений в метаболизме сердца.

Несмотря на полученные результаты в отношении патогенеза формирования коронарной микроваскулярной дисфункции, остается открытых в данной области вопросов, подчёркивающих актуальность данной проблемы и необходимость проведения дальнейших исследований с включением большего количества больных и анализом дополнительных факторов в отношении развития коронарной микроваскулярной дисфункции.

Изучение патогенетических механизмов формирования СНсФВ позволит открыть двери для новых методов профилактики и терапии, а значит снизить затраты на лечение данного социально значимого заболевания. С точки зрения практической значимости, планируемые результаты могут составить основу для медицинских технологий стратификации риска СНсФВ и ранней/доклинической ее диагностике, что определит выбор персонифицированного лечения социально значимой патологии.

Ограничения исследования. Основными ограничениями данного исследования являлись относительно небольшая и неоднородная выборка больных и краткосрочный период наблюдения - 12 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Radico F, Zimarino M, Fulgenzi F, Ricci F, Di Nicola M, Jespersen L, et al. Determinants of long-term clinical outcomes in patients with angina but without obstructive coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. Eur Heart J. – 2018 – V. 39 – 2135–46 – DOI: 10.1093/eurheartj/ehy185
2. Del Buono M, Montone R, Camilli M, Carbone S, Narula J, Lavie C, et al. Coronary microvascular dysfunction across the spectrum of cardiovascular diseases: JACC state-of-the-art review. J Am Coll Cardiol. – 2021 – V. 78 - 1352–71. doi: 10.1016/j.jacc.2021.07.042
3. Taqueti V, Solomon S, Shah A, Desai A, Groarke J, Osborne M, et al. Coronary microvascular dysfunction and future risk of heart failure with preserved ejection fraction. Eur Heart J. – 2018 – V. 39:840–9 - DOI: 10.1093/eurheartj/ehx721
4. Camici P, Crea F. Coronary microvascular dysfunction. N Engl J Med. – 2007 – V. 356 - 830–40 - doi: 10.1056/NEJMra061889
5. Paulus W.J., Tschope C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. J Am Coll Cardiol. – 2013 – V. 62 - 263–71 - doi: 10.1016/j.jacc.2013.02.092

ПРИМЕНЕНИЕ КАРДИОПЛЕГИЧЕСКОГО РАСТВОРА ДЕЛЬ НИДО У ПАЦИЕНТОВ С ВЫРАЖЕННОЙ ГИПЕРТРОФИЕЙ МИОКАРДА

О.С. Кулинченко, Г.И. Салагаев, к. м. н., Н.В. Меньших, к. м. н.

Введение

Методам защиты миокарда во время кардиохирургических вмешательств посвящено множество исследований, в которых сравниваются различные методики кардиоплегии, способы подачи в коронарное русло, температурные режимы. Интраоперационная методика кардиоплегии у пациентов с гипертрофией миокарда оказывает большое влияние на исход хирургического лечения, поскольку гипертрофированный миокард имеет сниженную устойчивость к ишемии и реперфузионному повреждению [13]. Однако, при выборе кардиоплегического раствора часто не учитывается наличие гипертрофии миокарда [9].

Широко применяемым кардиоплегическим раствором для защиты миокарда является официнальный НТК-раствор «Кустодиол». «Кустодиол» представляет собой внутриклеточный кристаллоидный кардиоплегический раствор, используемый центрами для защиты миокарда во время сложных кардиохирургических операций и для сохранения органов в трансплантационной хирургии. Несмотря на то, что «Кустодиол» является «золотым стандартом» при проведении защиты миокарда, он имеет ряд недостатков: необходимость канюляции двух вен (раствор не должен попадать в контур аппарата ИК, длительное время действия, и др.)

В начале 1990-х Matte и del Nido разработали новый раствор для защиты миокарда в детской кардиохирургии в Университете Питтсбурга. Незрелые кардиомиоциты особенно восприимчивы к перегрузке кальцием и реперфузии после ишемии [7]. Однако применение кардиоплегии по Дель Нидо у взрослых пациентов представляет собой относительно новый способ защиты миокарда [6]. Два крупных мета-анализа 2021 г. и 2023 г., в которые вошли 21 779 и 44 175 взрослых кардиохирургических пациентов, соответственно, показали аналогичные или лучшие краткосрочные клинические результаты по сравнению с обычным кардиоплегическим раствором [4, 12]. В руководстве EACTS/EACTA/EBCP 2019 г. по искусственному кровообращению (ИК) в кардиохирургии у взрослых рекомендовано применять кардиоплегию по Дель Нидо в случаях низкого риска оперативного вмешательства с коротким временем пережатия аорты [11]. Клышко Н.К. и соавт. показали безопасность и эффективность раствора у пациентов с ишемической болезнью сердца по сравнению с кровяной холодовой кардиоплегией по Buckberg, где время ишемии миокарда составило 63,8±26 vs 74,6±37 мин соответственно [1]. К схожим результатам пришли Кричевский Л.А. и соавт., показавшие, что кардиоплегия по Дель Нидо является надежным и доступным средством защиты миокарда при кардиохирургических операциях, обладающим длительным (до 90 мин) протективным

эффектом после однократного введения [2]. Приведенные выше исследования доказывают, что кардиоплегия по Дель Нидо является безопасной и благоприятной альтернативой кровяной кардиоплегии в кардиохирургии у взрослых.

Исследований, посвященных сравнению кардиоплегии по Дель Нидо и «Кустодиол» небольшое количество. В одном из таких исследований Talwar S. et al. показали, что кардиоплегия по Дель Нидо ассоциировалась с лучшим сохранением исходного сердечного индекса (СИ), меньшей продолжительностью искусственной вентиляции легких, более коротким пребыванием в ОРИТ и в стационаре, более низкими инотропными показателями и меньшим высвобождением тропонина-I [10].

До настоящего времени данные о его эффективности у больных с гипертрофией миокарда, тем более разного генеза, ограничены. В небольшом исследовании 2023 г., в которое вошли 59 пациентов с хирургическим лечением обструктивной формы гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), кардиоплегический раствор по Дель Нидо показал свою безопасность и эффективность по сравнению с обычной кровяной кардиоплегией [5]. Так же хочется отметить, что большинство сравнительных исследований были ретроспективными, включали разные виды сочетанных операций, где в контрольных группах использовались отличные по составу кардиоплегические растворы.

Целью нашего исследования было сравнить кардиоплегический раствор по Дель Нидо и эталонным НТК-раствором «Кустодиол» у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией или аортальным стенозом.

Материалы и методы

В РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского в 2022-2023 г. проведено сравнительное пилотное проспективное одноцентровое рандомизированное простое слепое исследование, в которое вошли 43 пациента.

Критериями включения в исследование стали гипертрофия миокарда, причиной которой явился аортальный стеноз (АС) или ГКМП; планируемое кардиохирургическое вмешательство - протезирование аортального клапана (ПАК) или септальная миоэктомия (СМЭ), отсутствие декомпенсации основного заболевания и наличие подписанного пациентом информированного добровольного согласия.

Участники были последовательно рандомизированы методом конвертов по типу кардиоплегического раствора: группа «Дель Нидо» (n=23) и группа «Кустодиол» (n=20). После наложения зажима на аорту, охлажденные кардиоплегические растворы подавались в коронарное русло с учетом рекомендуемого дозирования, антеградным способом, селективно или неселективно

В состав кардиоплегии по Дель Нидо: раствор Ионоплазм 1000 мл, маннитол 20 мл% 16,3 мл, сульфат магния 50% 4 мл, бикарбонат натрия 8,4% 13 мл, хлорид калия 15% 13 мл, лидокаин 1% 13 мл, оксигенированная аутокровь/кристаллоидный раствор - 1:4 [7]. Раствор изготавливался во время заправки аппарата ИК и помещался в холодильник при температуре +5°С. Часть крови добавлялась к кристаллоидному раствору непосредственно перед началом его перфузии в коронарное русло. Первичная доза кардиоплегии по Дель Нидо составила 20 мл/кг (но не более 1 л) с длительностью перфузии 2-3 минуты

Во время исследования оценивались предоперационные эхокардиографические особенности гипертрофированного миокарда; интраоперационные параметры, результаты чреспищеводного эхокардиографического (ЧПЭхо-КГ) исследования до и после основного этапа операции; возникновение периоперационного инфаркта миокарда, потребность в инотропной и вазопрессорной поддержке и ее длительность. Также проводился анализ концентрации тропонина I в нескольких временных точках: индукция анестезии, через 2 часа после окончания искусственного кровообращения, через 12 и 24 часа после поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Для морфологического анализа ткани миокарда производилось взятие биопсийного материала миокарда до начала подачи кардиоплегического раствора, через 20 минут после эффективной остановки сердечной деятельности, до начала ушивания аорты и через 20 минут после восстановления сердечной деятельности. Срезы ткани миокарда окрашивались ГОФП-методом (гематоксилин-основной фуксин-пикриновая кислота) с целью выявления очагов острого ишемического и метаболического повреждения.

Статистический анализ проводили с использованием пакета IBM SPSS Statistics версии 27.0. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Результаты

Демографические и антропометрические показатели не отличались между группами, $p>0,05$. Все пациенты исходно имели выраженную гипертрофию миокарда и отсутствие декомпенсации основного заболевания (таблица 1).

В структуре оперативных вмешательств, помимо протезирования аортального клапана и септальной миоэктомии, в обеих группах с одинаковой частотой наблюдались сочетанная коррекция митрального клапана - пластика или протезирование (плМК и ПМК) или аортокоронарное шунтирование с наложением одного анастомоза (таблица 2).

Таблица 1. Предоперационная эхокардиографическая оценка функции миокарда

Параметр	Группа «Дель Нидо» (n=23) Me (Q_1 – Q_3)	Группа «Кустодиол» (n=20) Me (Q_1 – Q_3)	p-критерий
Толщина МЖП, мм	19 (17-21)	19 (17-21)	0,376
ФВ ЛЖ, %	64 (62-65)	60 (57-63)	0,091
КДО ЛЖ, мл	101 (90-113)	100 (85-115)	0,844
ИММ г/м^2	176 (149-203)	181 (147-224)	0,259

Таблица 2. Структура оперативных вмешательств

Параметр	Группа «Дель Нидо» (n=23)	Группа «Кустодиол» (n=20)	p-критерий
СМЭ, n (%)	16 (69,6)	12 (60)	0,540
ПАК, n (%)	7 (30,4)	8 (40)	0,540
ПМК/ПлМК, n (%)	1 (4,3)	2 (10)	0,590
АКШ/МКШ, n (%)	1 (4,3)	2 (10)	0,590

Примечание. АКШ – аортокоронарное шунтирование МКШ - маммарокоронарное шунтирование

Значения времени искусственного кровообращения, ишемии миокарда, показателей интраоперационной ЧПЭхо-КГ были сопоставимы между группами (таблица 3). Объем однократного введения кардиоплегического раствора по Дель Нидо составил 1000 мл у всех пациентов (n=23), повторные инфузии не потребовались, максимальное время ишемии в этой группе составило 84 мин.

Группа «Дель Нидо» показала значимо более высокий процент спонтанного восстановления ритма (65,2% против 30%, p=0,008). Ни в одной из групп не потребовалось механической поддержки кровообращения, также не отмечалось периоперационного инфаркта миокарда, требующего применения высоких доз инотропных препаратов и вазопрессоров. В группе «Дель Нидо» у 6 пациентов (26%) в постперфузионном периоде наблюдали сосудистую недостаточность, в группе «Кустодиол» аналогичная ситуация отмечена у 4 пациентов (20%) (p=0,728). Сосудистую недостаточность определяли потребностью в норадреналине в дозе более 100 нг/кг·мин. Все пациенты с сосудистой недостаточностью были переведены в палату в первые послеоперационные сутки.

Таблица 3. Интраоперационные показатели

Параметр	Группа «Дель Нидо» (n=23) Me (Q_1 – Q_3)	Группа «Кустодиол» (n=20) Me (Q_1 – Q_3)	p-критерий
Время ИК, мин	47 (36-64)	60 (51-69)	0,438
Время ИМ, мин	75 (66-84)	79 (69-88)	0,317
Разряды электроимпульсной терапии, n	0 (0-3)	1 (0-2)	0,315
Кровопотеря, мл	500 (400-500)	525 (500-675)	0,064
ФВ2, %	63 (61-64)	63 (60-65)	0,885
СВ2, л/мин	4 (3-4)	4 (3-4)	0,344
КДО ЛЖ2, мл	86 (74-98)	98 (84-113)	0,184
Гидробаланс в конце операции, мл	2239 (1959 – 2518)	2028 (1870-2196)	0,646
Длительность операции, мин	173 (162-188)	185 (172-199)	0,494
Длительность анестезии, мин	236 (222-251)	242 (228-256)	0,537

Примечание. ФВ2, СВ2, КДО ЛЖ2 - параметры во время контрольного чреспищеводного эхокардиографического исследования в конце операции.

Только в группе «Кустодиол» семи пациентам (35%) потребовалась реинфузия аутоэритроцитов, что связано с особенностями применения данного раствора и использованием аппарата аутотрансфузии. Максимальное количество перелитых аутоэритроцитов составило 603 мл.

Уровни тропонина I через 2 ч после ИК (p=0,415), через 12 (p=0,528) и 24 ч после поступления в ОРИТ(p=0,281) значимо не различались между группами и имели тенденцию к снижению через сутки после операции (Рис. 1).

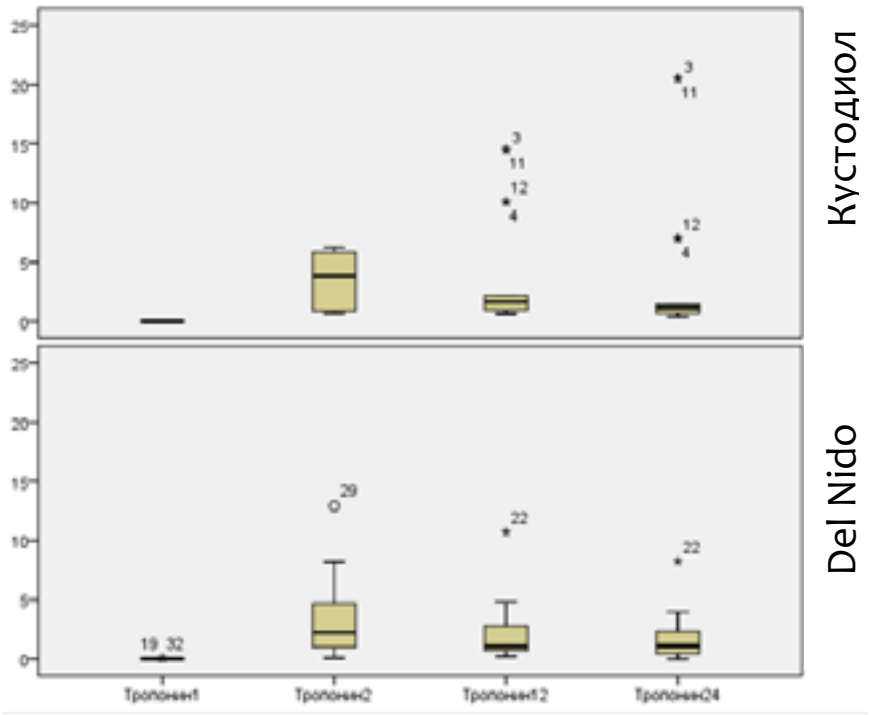


Рис. 1. *Примечание.* Тропонин 1- исходный уровень на этапе индукции анестезии; Тропонин 2 - через 2 ч после окончания ИК; Тропонин 12 и Тропонин 24 - через 12 и 24 ч от поступления в ОРИТ соответственно.

При гистологическом анализе ткани миокарда до кардиоплегии в обеих группах наблюдали признаки гипертрофии кардиомиоцитов. В группе ГКМП морфологическая картина соответствовала диагнозу, наблюдался кардиосклероз диффузно-очагового типа, интрамуральные сосуды с утолщенными стенками и узким просветом, эндокард склерозирован, утолщен, клетки с дистрофическими изменениями в виде мелких очагов отека цитоплазмы и изредка с незначительными участками деструкции миофибрилл. У пациентов с аортальным стенозом отмечался диффузный умеренно выраженный кардиосклероз, склероз периваскулярных пространств, интрамуральные артерии с утолщенными стенками, суженным просветом, очаговый склероз эндокарда, неравномерная гипертрофия кардиомиоцитов, в цитоплазме отложения липофусцина. Максимальные морфологические изменения отмечены через 20 мин после реперфузии. В обеих группах отмечали интерстициальный отек - 69,5% в группе «Дель Нидо» против 75% в группе «Кустодиол», $p>0,05$; незначительное снижение содержания гликогена - 34,7% в группе «Дель Нидо», 33,3% в группе «Кустодиол», $p>0,05$. Перед ушиванием аорты и после восстановления сердечной деятельности отек стромы наблюдали в 52% и 50% случаев, у пациентов групп «Дель Нидо» и «Кустодиол» соответственно, $p>0,05$. Ни в одном препарате не было обнаружено некробиоза.

Статистически значимой разницы в длительности искусственной вентиляции легких (ИВЛ), пребывания в ОРИТ, пребывания в стационаре не обнаружено, $p>0,05$.

Обсуждение

Результаты данного пилотного проспективного одноцентрового рандомизированного простого слепого исследования подтверждают результаты нашей предыдущей работы о безопасности применения кардиоплегии по Дель Нидо [3]. Среднее время при проведении операций, протезирование аортального клапана, септальная миоэктомия с возможным сочетанием коррекции порока митрального клапана, составило 54 (39-65) мин во всей выборке. Максимальное время ишемии миокарда в группе «Дель Нидо» составило 84 мин. Кардиоплегический раствор по Дель Нидо может быть безопасно использован на операциях невысокого риска у пациентов с гипертрофией миокарда, что соответствует европейским рекомендациям по искусственному кровообращению и не противоречит проведенным исследованиям.

На наш взгляд кардиоплегический раствор по Дель Нидо имеет ряд преимуществ на операциях такого типа. Однократная инфузия раствора в коронарные артерии обеспечивает адекватную защиту миокарда до 90 мин. НТК-раствор «Кустодиол» обеспечивает защиту миокарда длительностью до 180 мин, что не целесообразно при коротком времени ишемии миокарда. Помимо этого, применение НТК-раствора «Кустодиол» требует раздельной канюляции нижней и полой вены, длительного времени экспозиции и применения кровосберегающей технологий с реинфузией отмытых эритроцитов, которая потребовалась у 35% пациентов, максимальный объем составил 603 мл. Одному пациенту, без исходных нарушений показателей коагулограммы, потребовалось восполнение дефицита факторов свертываемости и тромбоцитов. Из этого следует, что кардиоплегия по Дель Нидо может минимизировать кровопотерю, связанную с техникой выполнения. Помимо вышеперечисленного, состав приготовленного кардиоплегического раствора по Дель Нидо имеет экономически доступные компоненты, что минимизирует затраты.

Увеличение выборки и дальнейшие исследования изучения влияния степени и генеза гипертрофии миокарда на выбор методики кардиоплегии позволит определить оптимальную тактику защиты миокарда для этой категории пациентов и улучшить исходы кардиохирургических операций.

Выводы

1. Кардиоплегический раствор по Дель Нидо может обеспечивать сопоставимый с НТК-раствором «Кустодиол» уровень защиты у пациентов с выраженной гипертрофией миокарда при длительности ишемии миокарда до 90 мин.
2. Кардиоплегический раствор по Дель Нидо имеет ряд преимуществ на операциях с по сравнению с НТК-раствором «Кустодиол»: минимизация кровопотери, экономическая выгода, удобство применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клышко Н.К., Фургал А.А. и др. Кристаллоидно-кровяная холодовая кардиоплегия по del Nido и кровяная холодовая кардиоплегия по Buckberg при реваскуляризации миокарда: одноцентровое проспективное исследование // Клиническая и экспериментальная хирургия. 2021. №2

2. Кричевский Л.А., Саханов Е.И. и др. Эффективность кардиоплегии по del Nido во взрослой кардиохирургической практике // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2022. –№15 (1). – С. 26-31

3. Лысенко А.В., Аксельрод Б.А., Дымова О.В., Должанский О.В., Салагаев Г.И., Кулинченко О.С., Леднев П.В., Белов Ю.В. Интраоперационная защита миокарда у больных с выраженной гипертрофией миокарда. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2022. – 15(6). – С. 547-553.

4. Hawkins RB, Stewart JW 2nd, Wu X, et al. PERForm Registry and the Michigan Society of Thoracic and Cardiovascular Surgeons Quality Collaborative. del Nido versus Blood Cardioplegia in Cardiac Surgery: A Multicenter Analysis of Over 40,000 Patients. // J Thorac Cardiovasc Surg. – 2023. –2:S0022-5223(23)00883-8.

5. Huang Y, Yan S, Song Y, et al. Del nido versus conventional blood cardioplegia in patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy. //Perfusion. – 2023. – Published online. –doi:10.1177/02676591231163270.

6.Kim K, Ball C, Grady P, Mick S: Use ofdel Nido cardioplegia for adult cardiac surgery at the Cleveland clinic : Perfusion implications. // J Extra Corpor Technol. – 2014. – №46. – P. 317–323

7. Matte GS, del Nido PJ: History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's Hospital. // J Extra Corpor Technol. – 2012. – №44. – P. 98–103, 2012.

8. Mukdad L, Toppen W, Sanaiha Y, et al. Incidence of Cerebral Microemboli in Single-Dose vs. Multidose Cardioplegia in Adult Cardiac Surgery. // J Extra Corpor Technol. – 2018. №50(3). – P.143-148.

9. Suleiman MS, Hancock M, Shukla R, Rajakaruna C, Angelini GD. Cardioplegic strategies to protect the hypertrophic heart during cardiac surgery. //Perfusion. –2011. – №26. – P. 48-56.

10. Talwar S, Chatterjee S, Sreenivas V, et al. Comparison of del Nido and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia solutions in pediatric patients undergoing open heart surgery: A prospective randomized clinical trial. //J Thorac Cardiovasc Surg. – 2019. – №157(3). – P. 1182-1192.

11. Task Force M, Kunst G, Milojevic M, et al. 2019 EACTS/ EACTA/EBCP guidelines on cardiopulmonary bypass in adult cardiac surgery. // Br J Anaesth. – 2019. – №123. – P. 713–757.

12. Zhai K, Cheng X, Zhang P, et al. Del Nido cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: a systematic review and update meta-analysis. // *Perfusion*. 2021. – №38(1). – P. 6-17.

13. Zhu YC, Zhu YZ, Spitznagel H, Gohlke P, Unger T. Substrate metabolism, hormone interaction, and angiotensin-converting enzyme inhibitors in left ventricular hypertrophy. // Diabetes. – 1996. – №45. – P. 59–65

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ПРИОБРЕТЕННЫХ ПОРОКОВ СЕРДЦА

М.С. Латышев (Mikhail Sergeevich Latyshev), к.м.н.

ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Ишемическая митральная недостаточность

Введение

Ишемическая кардиомиопатия является «злокачественной» патологией миокарда, для которой характерно постоянное патологическое ремоделирование левого желудочка (ЛЖ), что является причиной формирования большого количества гемодинамически значимых митральных регургитаций (МР) в отдаленном послеоперационном (п/оп) периоде после стабильных реконструкций митрального клапана (МК) в непосредственном п/оп периоде [1-4].

В большинстве случаев пациенты с ишемической митральной недостаточностью (ИМН) имеют достаточно неблагоприятный прогноз, так, около 50% пациентов имеют высокий хирургический риск или являются неоперабельными, при этом смертность в течение 1 года без хирургического вмешательства составляет более 57% [1,2]. При выборе тактики лечения пациентов с ИМН, в отличие от других типов функциональной митральной недостаточности (МН), необходимо взвешивать риск/пользу от вмешательства на МК, поскольку пациенты зачастую критичны ко времени ишемии миокарда.

Вариант вмешательства на МК является причиной многих дебатов. По данным ассоциации *AATS («Ischemic Mitral Regurgitation Consensus Guidelines Writing Committee»)*, стандартная реконструкция МК (аннулопластика на опорном кольце, шовная) сопровождается большим количеством рецидивов МН в отдаленном сроки после операции, протезирование митрального клапана (ПМК) с сохранением подклапанных структур характеризуется высокой летальностью (≥ 13%) [3].

Результаты собственных исследований

В отделении приобретенных пороков сердца ФГБУ НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева проблемой хирургического лечения ИМН занимаются с 1994 года. На основании изучения собственных результатов хирургического лечения пациентов с ИМН (n-210, медиана наблюдения 64 месяца) с применением различных вариантов реконструкций и протезирования МК (медиана наблюдения 64 месяца) разработан алгоритм лечения пациентов в зависимости от варианта патологического ремоделирования ЛЖ и многокомпонентные реконструкции МК с изменением архитектоники ЛЖ.

Согласно нашему алгоритму, у пациентов с ИМН выделятся два варианта изменения геометрии митрального клапанного комплекса (I и IIIb тип). Отдельно необходимо выделять

пациентов с постинфарктными аневризмами ЛЖ в связи с высоким риском одномоментного вмешательства на МК, реконструкции ЛЖ и реваскуляризации миокарда (рис. 1).

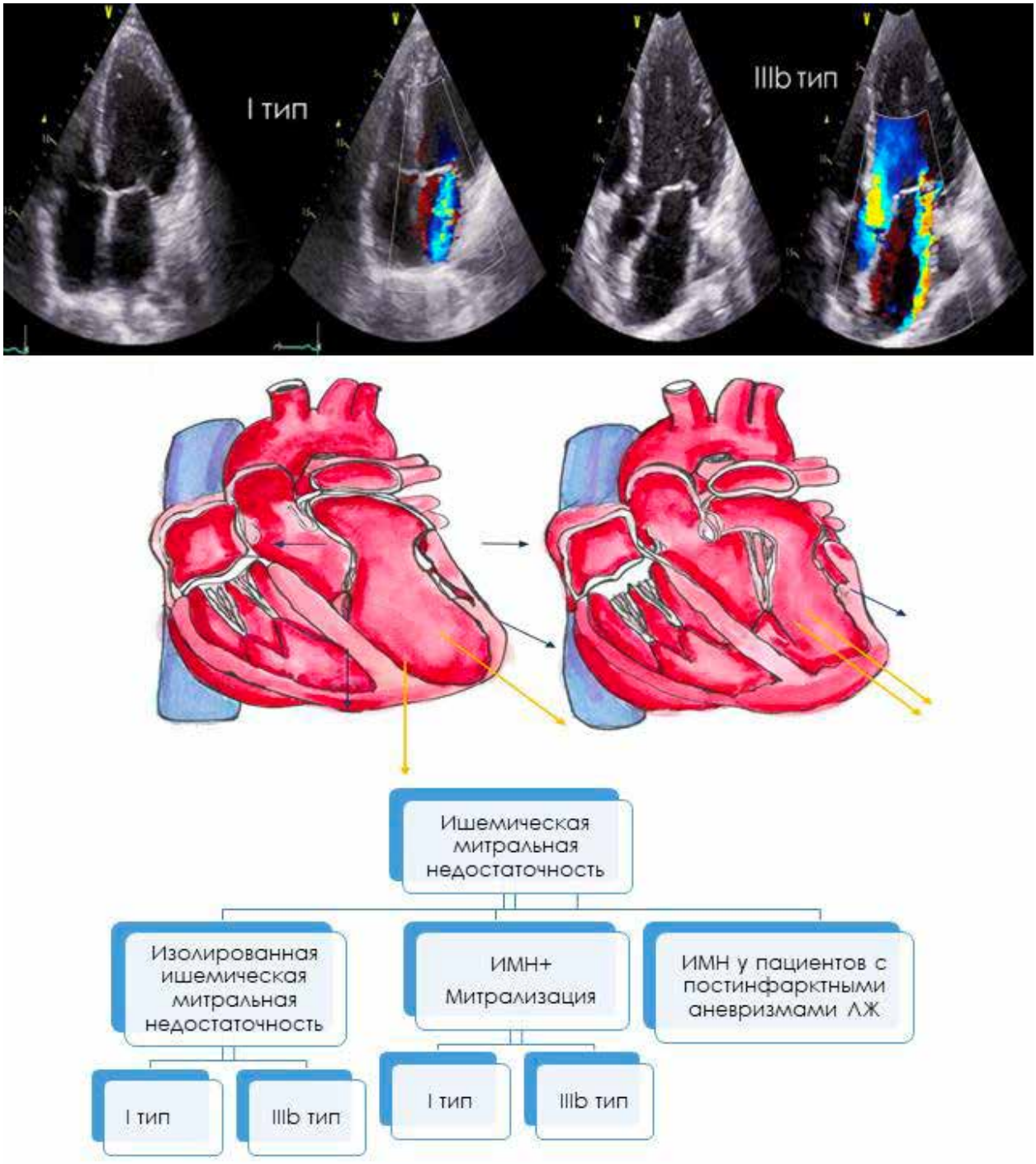


Рис. 1. Классификация пациентов в зависимости от варианта патологического ремоделирования левого желудочка при ишемической кардиомиопатии

I тип митральной дисфункции возникает при нормальной подвижности створок клапана с нарушением их центральной коаптации в результате изолированной аннулодилатации, считается более редким (встречается менее чем в 20% случаев) и благоприятным типом митральной

дисфункции относительно возможности выполнения реконструкции клапана со стабильными отдаленными результатами.

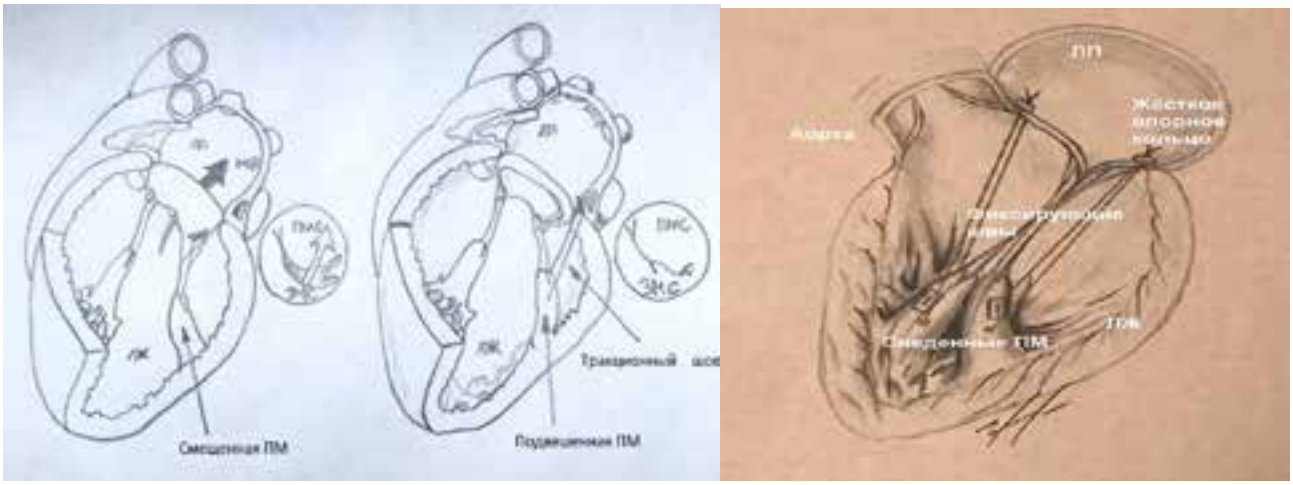
Изолированная ишемическая митральная недостаточность I типа

Данный тип митральной недостаточности эффективного корригируется изолированной рестриктивной аннулопластикой. В отдаленном п/оп периоде (медиана наблюдения 64 месяца) мы получили регресс МР (<2 ст.) у 66,70% пациентов с эффективным обратным ремоделированием (ЭОР) ЛЖ у 66,67% больных и значительным улучшением качества жизни в 55,56% случаев (функциональный класс по NYHA I-II).

Изолированная ишемическая митральная недостаточность IIIb типа

Наиболее частым вариантом ИМН является IIIb тип митральной дисфункции по классификации A. Carpentier, который встречается более чем в 70% случаев среди всех пациентов после инфаркта миокарда [1,2,4]. При данном типе митральной дисфункции происходит патологическое ремоделирование ЛЖ с апикальным смещением папиллярных мышц (ПМ), в основном задней группы. При этом, в отличии от неишемических вариантов ремоделирования ЛЖ, при ишемическом типе отмечаются значительно более выраженные патологические изменения со стороны митрального клапанного комплекса.

При IIIb типе стандартные реконструкции демонстрируют крайне нестабильные результаты, а ПМК неэффективно относительно ЭОР ЛЖ (ключевая точка лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией). В связи с этим, для эффективной коррекции данного типа МР нами адаптированы, разработаны и внедрены в клиническую практику многокомпонентные реконструкции с вмешательствами на всех уровнях клапана. Мы используем следующие варианты реконструкций: ремоделирующая аннулопластика в сочетании с релокацией ПМ и, при межпапиллярном расстоянии (МПР) более 32 мм, со сведением ПМ, рестриктивную аннулопластику с резекцией вторичных хорд задней митральной створки (рис. 2).



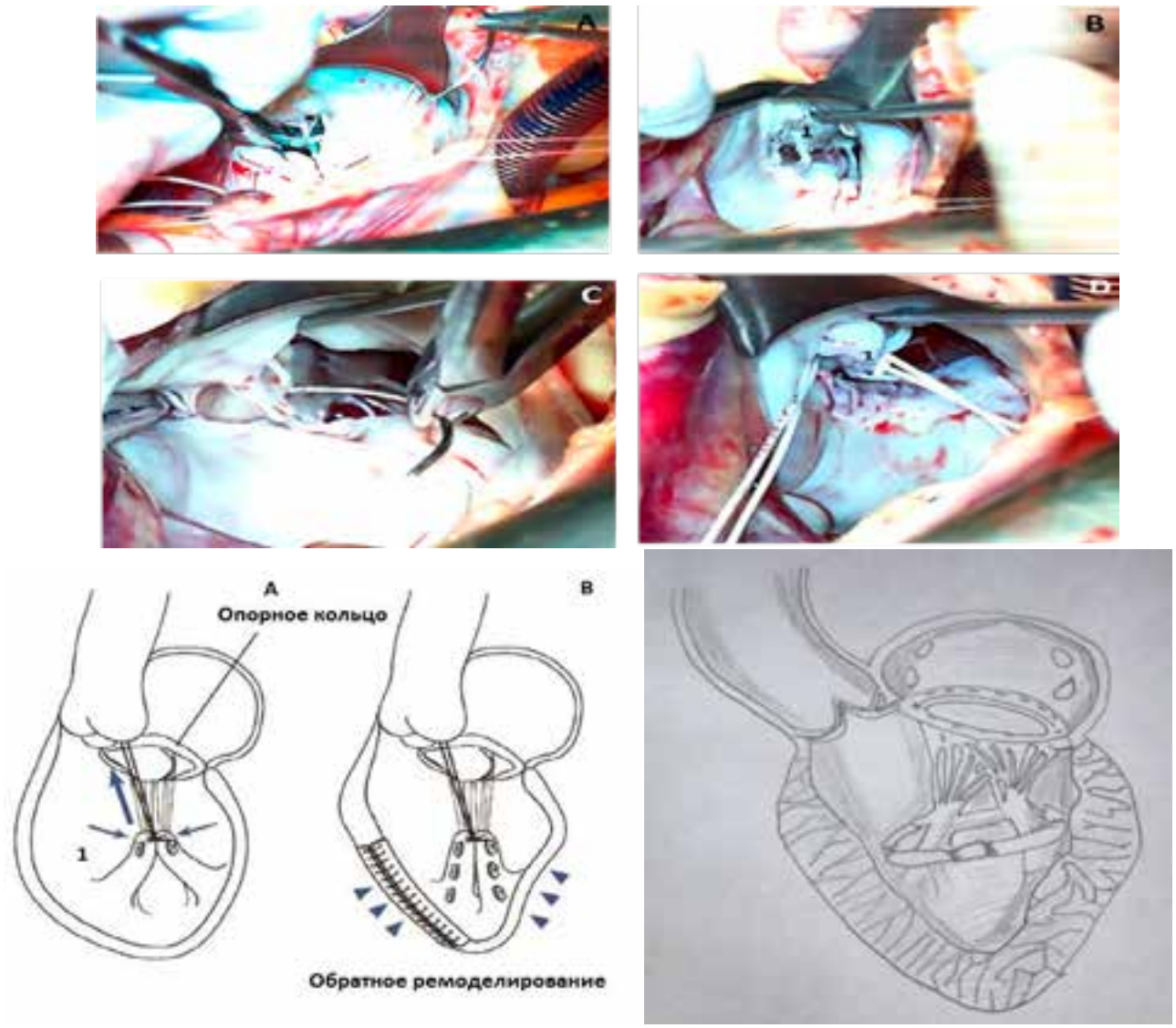


Рис. 2. Многокомпонентные реконструкции митрального клапана с вмешательством на всех уровнях клапана

Мы выполнили 31 многокомпонентную реконструкцию МК с релокацией ПМ и ремоделирующей аннулопластикой (медиана наблюдения 52 месяца). Свобода от гемодинамически значимой МР в отдаленном периоде составила ≥ 70%, ЭОР ЛЖ ≥ 80%, улучшение качества жизни отметило более 60% пациентов.

Ишемическая митральная недостаточность в сочетании с «митрализацией»

При данном типе МН в большинстве случаев ведущей кардиомиопатией является неишемическая, характерна выраженная сферизация ЛЖ со смещением обеих групп ПМ в сочетании с аннулодилатацией. При отсутствии вмешательства на МК в отдалённом периоде (медиана наблюдения 64 месяца) более чем у 50% пациентов отмечается наличие гемодинамически МР и трикуспидальной регургитации с выраженным патологическим ремоделирование ЛЖ и бивентрикулярной сердечной недостаточностью.

Согласно нашим данным, одномоментная коррекция МН, аортального порока и реваскуляризация миокарда целесообразно при отсутствии выраженного снижения контрактильности ЛЖ (фракция выброса (ФВ) < 35%) и наличия постинфарктных аневризм ЛЖ. Вариант вмешательства выбирается в зависимости от варианта митральной дисфункции.

Таким образом, на основании наших исследования пациентов с ИМН мы можем дать следующие рекомендации:

Пациентам с I типом дисфункции МК на фоне ишемической кардиомиопатии при МР ≥ 2 ст., диаметре фиброзного кольца (ФК) МК ≥ 38 мм, конечно-диастолическом объеме (КДО) ЛЖ ≥ 150 мл целесообразно выполнение сочетанного вмешательства на МК и коронарных артериях (КА). При ФВ ЛЖ ≥ 35% и МПР > 35 мм эффективно выполнение рестриктивной аннулопластики в сочетании со сведением ПМ. При сочетании ФВ ЛЖ ≥ 35% и МПР < 35 мм эффективна изолированная рестриктивная аннулопластика.

При наличии IIIb типа ишемической дисфункции МК и МР ≥ 2 ст., ФК МК ≥ 38 мм, глубине коаптации ≥ 8 мм, КДО ЛЖ ≥ 200 мл целесообразно выполнение сочетанного вмешательства на МК и КА. При ФВ ЛЖ > 35% и МПР > 35 мм эффективно применение многокомпонентных реконструкция МК с вмешательствами на подклапанных структурах и сведением ПМ или ПМК. В случае ФВ ЛЖ > 35% и МПР < 35 мм хорошие результаты демонстрирует применение многокомпонентных реконструкций с вмешательствами на подклапанных структурах или ПМК.

При МР 3 ст., ФВ ЛЖ ≤ 35% и постинфарктной аневризме ЛЖ решение о вмешательстве на МК должно принимать на основании консилиума в связи с высоким риском летальных осложнений, особенно при предполагаемом времени ишемии миокарда более 55 минут и времени искусственного кровообращения (ИК) ≥ 217 минут.

Использование митральных аллографтов в трикуспидальной позиции у пациентов с инфекционным эндокардитом на современном этапе развития биотехнологий.

При тяжелом инфекционном поражении правых отделах сердца или при продолжающемся приеме наркотических препаратов имеется высокая вероятность рецидива протезного эндокардита как при использовании биологических, так и механических протезов. Средний срок службы биопротеза у пациентов с инфекционным эндокардитом составляет 3-5 лет.

Одним из альтернативных вариантов «классическому» протезированию трикуспидального клапана, является имплантация митральных аллографтов (донорских клапанов сердца) в позицию трикуспидального клапана. Аллографты имеют ряд выгодных преимуществ – близкая к нативной конфигурация клапана, адаптация нативного митрального клапана к работе в условиях высокого системного давления, отсутствие «инородных» элементов которые могут быть входными «воротами» для инфекции, антибактериальная обработка, отсутствие необходимости в

пожизненном применении антикоагулянтной терапии. Более того, ряд исследователей считает, что у аллографтов существенно ниже риск рецидива инфекции при осложненных и деструктивных формах протезного эндокардита.

В отделении приобретенных пороков сердца ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» выполнено 16 имплантаций митрального аллографта в трикуспидальную позицию при выраженным инфекционном процессе в правых отделах сердца (рис. 3).

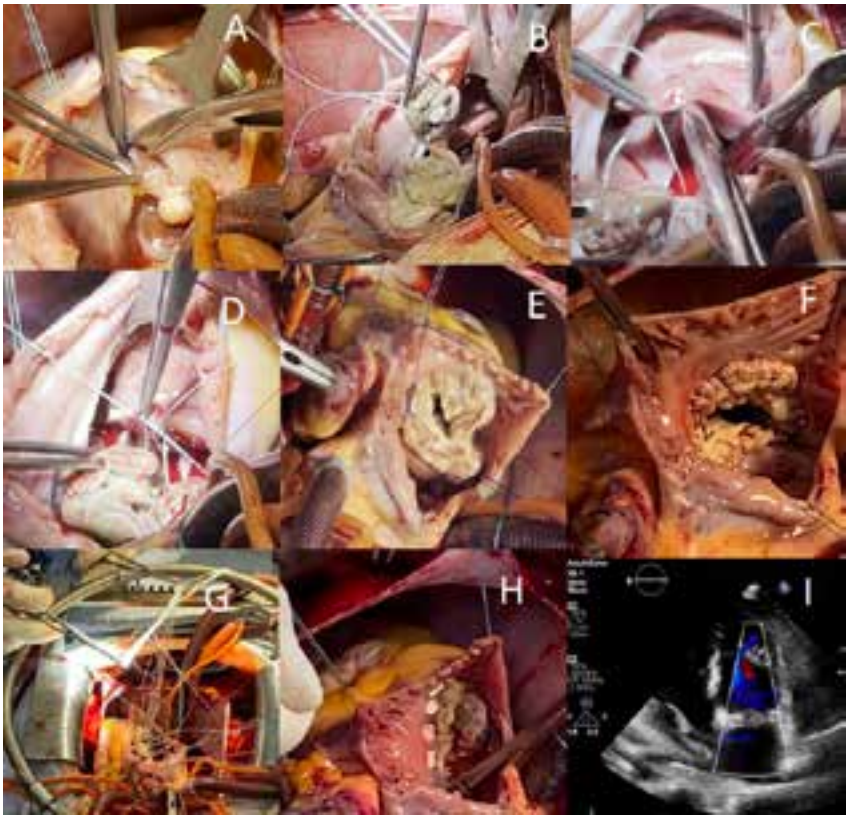


Рис. 3. Этапы имплантации митрального аллографта в трикуспидальную позицию

В раннем п/оп периоде летальных исходов и гемодинамически значимой регургитации на митральном аллографте не выявлены. В отдаленном периоде (с 1997 года) среди выживших пациентов (n = 13), по данным трансторакальной эхокардиографии, у 4 пациентов регургитация на аллографте отсутствовала, у 6 — минимальная, у 3 — незначительная. В 1 случае через 119 мес. реоперация в связи с регургитацией 3-й степени.

Миниинвазивная видеоторакоскопическая хирургия митрального клапана

На современном этапе развития технологий в широкую практику отделения приобретенных пороков сердца ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ внедрены многокомпонентные реконструкции митрального клапана из миниинвазивного доступа (боковая торокотомия) с видеоподдержкой. Подобные операции обеспечивают стабильные результаты реконструкции митрального клапана с хорошим косметическим эффектом (рис. 4.)

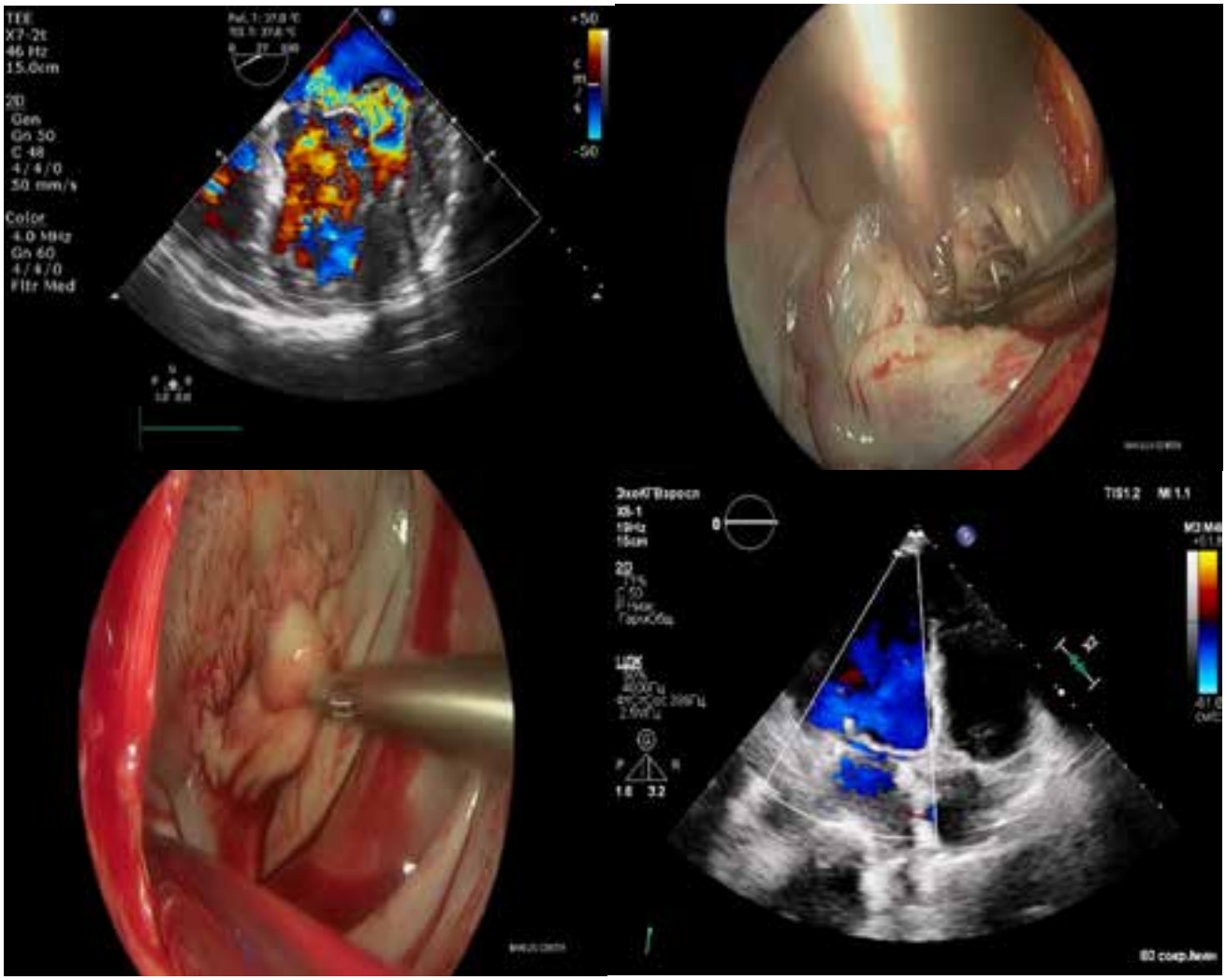


Рис. 4. Этапы выполнения операции

В отделении приобретенных пороков выполнено 28 подобных вмешательств при гемодинамически значимой первичной митральной регургитации, в 75% случаев (n-21) с одномоментной коррекции трикуспидальной недостаточности. Общая длительность операции составила 6,70± 1,2 часа, время ИК 197± 48 минут, время ишемии миокарда 117,5± 39,8 минут. Среднее время искусственной вентиляции легких составило 8,3 ± 2,3 часа, нахождения в ОРИТ 17,4 ± 3 часа. Летальных исходов не было, среднее время пребывания в отделении составило 8±2 дня. Все реконструкции митрального клапана стабильные.

Бескаркасные биологические протезы в аортальной позиции у пациентов высокого хирургического риска

В отделении приобретенных пороков сердца у пациентов высокого хирургического риска применяется бескаркасные биологические протезы которые обеспечивают гемодинамически показатели близкие к нативному клапану, а за счет возможности использования бесшовных протезов удается значительно снизить время операции.

При выраженном кальцинозе аорты и аортального клапана выполняется предварительное моделировании операции с использованием 3D печати для подбора оптимального протеза до начала выполнения основного этапа операции что позволяет значительно снизить время ишемии миокарда.

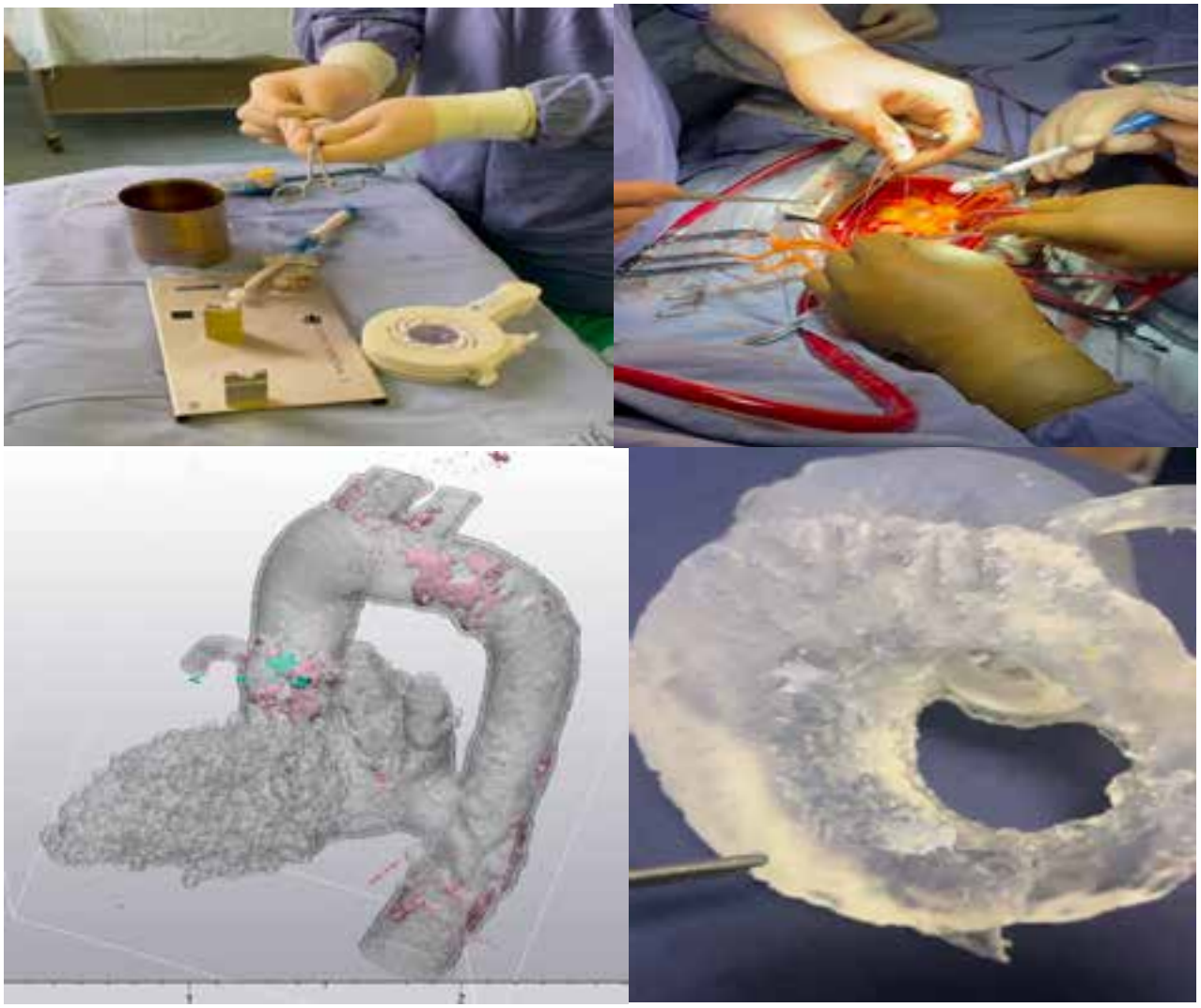


Рис. 5. Имплантация бесшовного бескаркасного биологического протеза с применением 3Д моделирования и печати

ЛИТЕРАТУРА

1. Cioffi, Giovanni et al. “Functional mitral regurgitation predicts 1-year mortality in elderly patients with systolic chronic heart failure.” European journal of heart failure vol. 7,7 (2005): 1112-7. doi:10.1016/j.ejheart.2005.01.016
2. Coats AJS, Anker SD, Baumbach A, et al. The management of secondary mitral regurgitation in patients with heart failure: a joint position statement from the Heart Failure Association (HFA), European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI), European Heart Rhythm Association (EHRA), and European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) of the ESC [published online ahead of print, 2021 Mar 18]. Eur Heart J. 2021;42(13):1254-1269. doi:10.1093/eurheartj/ehab086
3. AATS Ischemic Mitral Regurgitation Consensus Guidelines Writing Committee et al. “2016 update to The American Association for Thoracic Surgery (AATS) consensus guidelines: Ischemic mitral valve regurgitation.” The Journal of thoracic and cardiovascular surgery vol. 153,5 (2017): e97-e114. doi:10.1016/j.jtcvs.2017.01.031
4. Шумовец В.В., Шкет А.П., Гринчук И.И., Курганович С.А., Лысенок Е.Р., Семенова Н.В., Островский Ю.П. Так кому же выполнять ли хирургическую коррекцию умеренной ишемической митральной недостаточности? Ответ после 10-летнего наблюдения. Евразийский Кардиологический Журнал. 2016;(3):170.

   Shumovec V.V., Shket A.P., Grinchuk I.I., Kurganovich S.A., Lisenok E.P., Semenova N.V., Ostrovskiy Yu. P. So who should perform surgical correction of moderate ischemic mitral regurgitation? Response after 10-year follow-up. Eurasian heart journal. 2016;(3):170. (In Russ.)

РОЛЬ ПАРОДОНТПАТОГЕНОВ В ФОРМИРОВАНИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ РИСКОВ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА С ОЖИРЕНИЕМ

Г.Е. Леонов, Ю.Р. Вараева, Е.Н. Ливанцова, А.В. Стародубова

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, г. Москва, Российская Федерация

В последние десятилетия значительно вырос интерес к изучению взаимосвязи между хроническими инфекциями и развитием сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Малоизученным остается влияние бактерий ротовой полости, в частности пародонтпатогенов на различные факторы риска ССЗ. Пародонтит - воспалительное заболевание пародонта, приводящее к постепенному разрушению альвеолярной кости и потере зубов [1]. Накопленные данные свидетельствуют, что пародонтит не только является причиной местного воспаления, но и может оказывать системное воздействие на организм человека, увеличивая риск развития ССЗ [2]. Среди основных пародонтопатогенов, вызывающих наибольший интерес, выделяются *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* [3]. Эти бактерии обладают рядом вирулентных факторов, способствующих разрушению пародонтальных тканей, и способны выходить за пределы ротовой полости, распространяясь через кровоток и вызывая системные воспалительные реакции [4].

Механизмы системного воздействия пародонтопатогенов на организм многочисленны и включают в себя прямое воздействие бактериальных компонентов на сосудистую стенку, а также косвенное влияние через медиаторы воспаления [5]. Эти процессы могут способствовать развитию атеросклероза, гипертонии и других ССЗ [6]. В частности, *Porphyromonas gingivalis* была обнаружена в атеросклеротических бляшках, что свидетельствует о ее возможной роли в инициации и прогрессировании атеросклероза [7].

Одним из важных аспектов воздействия пародонтопатогенов на системное здоровье является их способность влиять на липидный обмен [8]. В ряде исследований было показано, что инфекции, вызванные пародонтпатогенами, могут оказывать влияние на показатели липидного профиля, в частности была продемонстрирована связь *Pgingivalis* с дислипидемией [9]. Эти данные подчеркивают необходимость комплексного подхода к профилактике и лечению пародонтита, не только как заболевания полости рта, но и как важного фактора риска ССЗ.

Цель исследования: изучить распространенность *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* у лиц молодого возраста с ожирением и с нормальной массой тела, а также их влияние на липидный профиль и показатель оценки сердечно-сосудистого риска SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation).

Материалы и методы

Для данного исследования был отобран 101 участник, критериями включения был возраст от 18 до 44 лет, отсутствие острых и обострения хронических заболеваний, отсутствие в анамнезе онкологических заболеваний, беременности, лактации. Далее участники были разделены на 2 группы (рис.1) согласно их индексу массы тела (ИМТ), пациенты с ожирением (ИМТ >30 кг/м2, МО) и контрольная группа без ожирения массой тела (ИМТ 18,5 - 29 кг/м2, МК). Исследования включали осмотр, сбор анамнеза, исследование состава тела методом биоимпедансометрии, биохимический анализ крови, взятие мазка с поверхности зубов и десен, выделение ДНК и проведение ПЦР анализа на наличие пародонтпатогенов *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* [10]. Для проведения статистического анализа использовалось программное обеспечение SPSS 27.0, для числовых переменных применялся критерий Манна-Уитни, для категориальных Хи-квадрат, значимым считали p value < 0,05.

Рисунок. 1. Распределение участников по группам

Результаты

Средний возраст участников составил 30 лет, 69% женщин. В группу МО вошло 55 участников, 46 в группу МК. Группы статистически не отличались по показателям пола, возраста и роста, но отличались по большинству показателей состава тела и биохимическим показателям липидного профиля, включая общий холестерин (ОХ), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), триглицериды (ТГ). Подробная информация представлена в Таб. 1.

Таблица 1.Общая информация об участниках исследования

	Me [Q1;Q3]		
Группа	МО (п=55)	МК (п-46)	p-value
Возраст, лет	31 [27:38]	29 [25:36]	0,059
Пол	М - 35.5% Ж - 64.5%	М - 23.7% Ж - 76.3%	0.147
Рост, см	171 [166:177]	173 [168:181]	0.084
Масса тела, кг	101 [85:132]	66 [58:71]	0.001
ИМТ, кг/м2	34.8 [32.2:41.1]	21.6 [20.3:23.1]	0.001
Основной обмен, ккал	1690[1476; 1891]	1485	0.001

		[1287:1612]	
Внутр, жидкость, кг	27,5 [21,6:32,2]	21,3 [19,4:26,2]	0,001
Внеклет. жидкость, кг	18,1 [14,8:19,7]	15,1 [12,7:16,7]	0,007
Белок, кг	12,5 [9,1:13,5]	10,2 [8,9:11.9]	0,001
Сод. Минер, кг	4,1 [3,2:4,7]	3,2 [3,2:4,2]	0.001
Сод. воды, кг	46,1 [36,4:50,7]	35,9 [31,0:43,5]	0,001
Скелет, мышцы, кг	32,9 [27,9:40,7]	27,2 [23.1:32.8]	0,001
Жир, кг	41,5 [36,2:55,2]	14,4 [12,9:18,2]	0,001
Жир, %	42,7 [35,3;47,4]	24,6 [16,9:25,9]	0,001
Соотношение ВКЖ/ОКЖ	0,373 [0,370:0,383]	0,377 [0,375:0,382]	0,421
Полный фаз. угол	5.8 [5,3:6,2]	5.4 [5,1;6,0]	0,101
Безжировая масса, кг	59,5 [50,2:72,9]	50,5 [41,4:61,7]	0.001
Гощая масса, кг	56,9 [46,9:67,4]	47,9 [40,4:58,9]	0,001
VFA	205,3 [167,3:239,5]	65,9 [52,4:81,9]	0,001
Индекс талия-бедра	1,03 [0.95:1.11]	0.87 [0,81:0,88]	0,001

Глюкоза, ммоль/л	5,1 [4,6;5,4]	4,8 [4,6;5,1]	0,081
ЛПНП. ммоль/л	3.4 [2,8:4,1]	2,8 [2.4:3.!]	0,001
ЛПВП. ммоль/л	1,2 [0,9;1,3]	1,5 [1,2;1,7]	0,001
ТГ. ммоль/л	1,1 [0,9:1,5]	0,8 [0,7:0,9]	0,001
ОХ. ммоль/л	5.0 [4,3:5,6]	4,6 [4,2:5,2]	0,001
Общий белок, г/л	70,6 [69,3:72,8]	71,5 [69,4:75,9]	0,31
АЛТ, Ед/л	22,1 [18,0:39,0]	15,0 [12,0:22,0]	0,12
АСТ, Ед/д	20 [17,9:30,3]	18,9 [16,4:20,9]	0,29
Креатинин мкмоль/л	74,0 [67,0:84,0]	72,0 [69,0:80,1]	0,15
Мочевина, ммоль/л	4,1 13.8:4.7|	4,1 [3.5:5.!]	0,43
ЩФ Ед/л	57,1 [49,1:69,4]	52,2 [48,2:65,8]	0,09
SCORE	2 [1:3]	1 [1:1]	0,01

Распространенность *P.gingivalis* составила 14,9 % в группе МО и 12,2 % в МК, но не имела статистической разницы, распространенность *T. denticola* была 49,4% и 21,3% для МО и МК соответственно (p value <0,05). Показатель сердечно-сосудистого риска SCORE

не различался достоверно между пациентами, у которых была выявлена либо отсутствовала *P.gingivalis.* Напротив, значительно более высокий риск имелся у пациентов с T.denticola, в сравнении с теми, у кого *T.denticola* не была обнаружена. При сопоставлении липидных профилей, у пациентов с P.gingivalis наблюдались более высокие значения общего холестерина по сравнению с контрольной группой. В группах *T.denticola^ T.denticola*-статистически значимые различия были выявлены в показателях ОХ и ЛИНИ. Данные представлены на рис. 2.

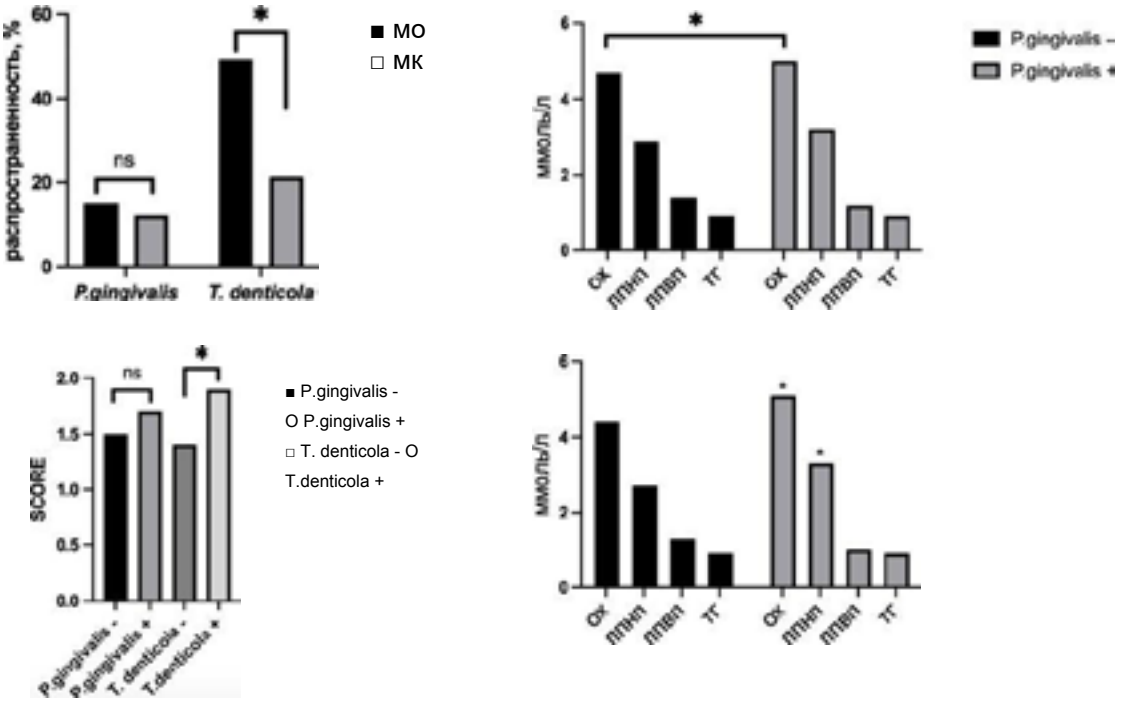


Рисунок 2. Распространенность *P.gingivalis* и *T.denticola* у лиц молодого возраста в группах с ожирением/без ожирения. Представлена зависимость наличие или отсутствия данных бактерий и параметров липидного обмена, а также SCORE.

Заключение

По результатам исследования *T.denticola* показала более высокую распространенность у пациентов с ИМТ >30, что может свидетельствовать о связи данного пародонтпатогена с алиментарнозависимыми заболеваниями. Риск по шкале SCORE был значительно выше у тех, у кого присутствовала *T.denticola,* по сравнению с участниками, не являющимися ее носителями. При этом *P.gingivalis* не показала влияния на риск сердечно-сосудистых осложнений. Обнаруженные увеличенные значения общего холестерина у пациентов с *P.gingivalis* и изменения липидного профиля у пациентов с *T.denticola* свидетельствуют о потенциальном влиянии этих бактерий на липидный обмен. Таким образом, требуются дальнейшие исследования для выявления связи и определения механизмов влияния данных пародонтпатогенов на факторы риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hajishengallis G., Chavakis T., Lambris J.D. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy // Periodontal. 2000. 2020. Vol. 84, № 1. P. 14-34.
2. Sanz M. et al. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report // J. Clin. Periodontal. 2020. Vol. 47, №3.P. 268-288.
3. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation //Nat. Rev. Immunol. 2015. Vol. 15, № 1. P. 30-44.
4. Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities: 7 // Nat. Rev. Immunol. Nature Publishing Group, 2021. Vol. 21, № 7. P. 426-440.
5. Henein M.Y. et al. The Role of Inflammation in Cardiovascular Disease // Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, №21. P. 12906.
6. Hussain M., Stover CM, Dupont A. P. gingivalis in Periodontal Disease and Atherosclerosis - Scenes of Action for Antimicrobial Peptides and Complement // Front. Immunol. 2015. Vol. 6. P. 45.
7. Czemiuk M R et al. Unexpected Relationships: Periodontal Diseases: Atherosclerosis-Plaque Destabilization? From the Teeth to a Coronary Event // Biology. 2022. Vol. 11, № 2. P. 272.
8. Zhang D. et al. Relationship between periodontal status and dyslipidemia in patients with type 2 diabetic nephropathy and chronic periodontitis: A cross-sectional study // J. Periodontal Res. 2022. Vol. 57, № 5. P. 969-976.
9. Curia M.C. et al. Oral Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum Abundance in Subjects in Primary and Secondary Cardiovascular Prevention, with or without Heterozygous Familial Hypercholesterolemia // Biomedicines. 2022. Vol. 10, № 9. P. 2144.
10. Experimental Gingivitis Induces Systemic Inflammatory Markers in Young Healthy Individuals: A Single-Subject Interventional Study | PEGS ONE [Electronic resource]. URL: https://joumals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/joumal.pone.0055265#pone.0055265-Ashimotol (accessed: 29.02.2024).

НЕПРЕРЫВНАЯ ПОДКОЖНАЯ ИНФУЗИЯ ИНСУЛИНА В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Л.С. Лифанова (Liubov Sergeevna Lifanova), к.м.н.

ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) по-прежнему остается основной причиной смерти и инвалидности трудоспособного населения во всем мире. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2030 году число умерших от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) составит около 23,6 млн, что свидетельствует о возникновении эпидемии ССЗ в XXI веке [1]. Однако в Российской Федерации, по данным Федеральной службы государственной статистики, с 2000 года зафиксировано снижение смертности от ССЗ. За 2021 год умерли от ССЗ 933 986 человек, что на 30% меньше, чем в 2000 году [2].

Подобная положительная тенденция, по мнению специалистов, связана с тем, что все больше граждан проходят медицинские профилактические осмотры, и с эффективностью мероприятий по борьбе с табакокурением и употреблением алкоголя, а также доступностью высокотехнологичной медицинской помощи.

Одним из основных факторов риска развития ССЗ служит сахарный диабет (СД) 2 типа. Ввиду нарушения углеводного и липидного обменов у больных СД 2 типа наблюдаются эндотелиальная дисфункция и прогрессирование атеросклероза сосудов, которые становятся триггерами в развитии ССЗ, в частности ИБС. Известно, что гипергликемия вызывает активацию системного воспалительного ответа, приводящую к увеличению продукции провоспалительных цитокинов, способствующих прогрессированию атеросклероза и дестабилизации бляшек, они привлекают лейкоциты в очаг поражения и нарушают функцию тромбоцитов. Одним из таких ключевых провоспалительных цитокинов является хемокин, экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при их активации (RANTES). У больных СД 2 типа RANTES принимает участие в индукции процесса воспаления, имеющего определяющее значение в формировании и последующем разрыве атеросклеротической бляшки [3].

Кроме того, избыточная масса тела, которая часто сопутствует СД 2 типа из-за особенностей метаболических нарушений, также провоцирует развитие хронического воспалительного процесса.

Адипоциты - источник синтеза множества цитокинов и гормонов, в частности лептина. Лептин способствует атерогенезу, участвуя в привлечении моноцитов к очагу повреждения и трансформации их в пенистые клетки, а также стимулируя продукцию

провоспалительных и проатерогенных цитокинов, что приводит к повреждению структуры и к дисфункции эндотелиальных клеток, кардиомиоцитов [4].

У пациентов с СД 2 типа чаще встречается многососудистое поражение коронарного русла, требующее выполнения операции коронарного шунтирования (КШ). Известно, что в норме в ответ на оперативное вмешательство развивается острый воспалительный ответ, вырабатываются провоспалительные маркеры острой фазы, главным образом С-реактивный белок (СРБ). СРБ влияет на процессы инициации эндотелиальной дисфункции, активируя макрофаги и увеличивая продукцию молекул клеточной адгезии, что в итоге повышает риск развития сердечно-сосудистых событий.

Помимо этого, при выполнении хирургического вмешательства у пациентов без СД может также развиться стрессовая гипергликемия [5]. С учетом неблагоприятного воздействия гипергликемии на сердечно-сосудистую систему, опосредованного различными патогенетическими механизмами, поиск наиболее эффективного метода управления гликемией в периоперационном периоде КШ чрезвычайно важен.

Непрерывная внутривенная инсулинотерапия служит «золотым стандартом» достижения и поддержания нормогликемии при выполнении кардиохирургических вмешательств, в частности операции КШ. Интересным представляется тот факт, что от способа подачи и дозы инсулина зависит интенсивность продукции адипокинов. Так, согласно результатам нескольких исследований, внутривенное введение инсулина остро стимулирует выработку лептина, а при его внутривенной инфузии в течение 4 часов концентрация лептина увеличивается на 10% [4]. В настоящее время применение систем непрерывного мониторирования глюкозы (НМГ) позволяет проводить более тщательный контроль гликемии и своевременно выявлять гипо- и гипергликемические состояния, а современные технологии помповой системы подачи инсулина помогают эффективно управлять нарушенным гомеостазом глюкозы в периоперационном периоде КШ.

Цель исследования: оценка эффективности периоперационного управления гликемией у больных ИБС и СД 2 типа при использовании систем НМГ и непрерывной подкожной инфузии инсулина (НПИИ) для снижения риска послеоперационных осложнений КШ.

Материалы и методы

В проспективное сравнительное исследование включены 105 больных со стабильной ИБС и многососудистым поражением коронарного русла, имевших показания к КШ, согласно национальным и международным рекомендациям. Операции КШ проводились по двум основным методикам: на работающем сердце с подключением параллельного

искусственного кровообращения (ИК) в условиях нормотермии и без применения ИК (Off-pump coronary artery bypass).

Все пациенты проходили обследование и лечение в отделении неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии Национального медицинского исследовательского центра сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева в период с 2016 по 2018 г. (руководитель — академик РАН Е.З. Голухова).

Критериями исключения выбраны СД 1 типа, острый гепатит, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в течение последнего месяца, психические расстройства, острые инфекционные заболевания, злокачественные новообразования, аллергические реакции на йодосодержащие контрастные препараты, кровотечение из желудочно-кишечного тракта в течение последнего месяца.

Больные ИБС были разделены на две группы: в основную группу (n = 52) включены пациенты ИБС с установленным диагнозом СД 2 типа (стадия компенсации) на основании диагностических критериев СД и других нарушений гликемии (ВОЗ, 1999–2013); в контрольную группу (n = 53) вошли больные ИБС без СД 2 типа и других нарушений гликемии в анамнезе и по данным лабораторных исследований при поступлении в стационар.

Клиническая характеристика больных представлена в *таблице*.

Пациенты с ИБС и СД 2 были разделены на две подгруппы случайным образом (простая рандомизация): в первой подгруппе (n = 24) коррекция гликемии проводилась посредством НПИИ с учетом данных НМГ; во второй подгруппе (n = 28) осуществлялось внутривенное болюсное введение инсулина короткого действия с учетом значений глюкозы в образцах венозной крови 1 раз в 3 часа; показатели НМГ во внимание не принимались.

Перед выполнением оперативного вмешательства проводился сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, объективный осмотр пациентов, включающий перкуссию, пальпацию и аускультацию. У всех больных до и после операции выполнены нижеследующие диагностические мероприятия.

1. Клинико-лабораторные исследования: клинический и биохимический анализы крови, в том числе оценка липидного профиля, концентрации гликированного гемоглобина и гормонов щитовидной железы, степени агрегации тромбоцитов; скрининговые клоттинговые тесты. Кроме того, у всех пациентов брали кровь из периферической вены для измерения уровня высокочувствительного СРБ (вч-СРБ) в нескольких временны́х точках (до операции, через час, 12 часов, на 7-е сутки и через год после нее) и определения концентраций лептина, адипонектина, RANTES до операции, на 7-е сутки и через год после КШ.

2. Инструментальные исследования: электрокардиография (ЭКГ), холтеровское мониторирование ЭКГ, трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ), ультразвуковое дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий, артерий и вен нижних конечностей, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, эзофагогастродуоденоскопия, а также повторная селективная коронарография в случае необходимости.

Техника контроля и коррекции периоперационной гликемии

У всех пациентов проводился контроль гликемии в течение 72 часов после КШ посредством системы НМГ, интегрированной в инсулиновую помпу MiniMed Paradigm VEO 554/754. Значения гликемии в интерстициальной жидкости регистрировались каждые 5 минут с помощью сенсора (Medtronic Enlite), установленного подкожно в область трапециевидной мышцы вблизи VII шейного позвонка за несколько часов до хирургического вмешательства. Полученные данные через трансмиттер передавались непосредственно на помпу.

В первой подгруппе больных ИБС и СД 2 типа коррекция гликемии осуществлялась посредством НПИИ через помпу с учетом значений НМГ в режиме реального времени. С момента поступления пациента в отделение реанимации проводилась НПИИ в базальном режиме при условии отсутствия гипогликемии, по данным анализа газового состава крови. Базальная скорость корректировалась с учетом данных НМГ в режиме реального времени по согласованию с эндокринологом с использованием алгоритмов специализированной медицинской помощи больным СД.

Во второй подгруппе пациентов с ИБС и СД 2 типа осуществлялось внутривенное болюсное введение инсулина короткого действия с учетом значения глюкозы в образцах венозной крови 1 раз в 3 часа (данные НМГ во внимание не принимались). В контрольной группе тактика коррекции гликемии была аналогична таковой во второй подгруппе.

Исходы в раннем послеоперационном периоде

В раннем послеоперационном периоде (7-е сутки) конечными точками исследования выбраны летальные исходы и послеоперационные осложнения: посткардиотомный синдром (ПКТС) (диагноз ставили при наличии как минимум двух критериев: лихорадки, болевого синдрома перикардиального или плеврального генеза, шума трения перикарда/или плевры, перикардиального/или плеврального выпота с повышенным уровнем СРБ), пневмония, медиастинит, сепсис, острый коронарный синдром, ОНМК, фибрилляция предсердий, острая почечная недостаточность. Выполнен и анализ длительности госпитализации.

Исходы в отдаленном послеоперационном периоде

Через год после операции пациенты были приглашены на обследование в НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева, которое включало сбор жалоб и анамнестических данных за прошедший год, взятие образцов крови для определения уровней вчСРБ, RANTES, лептина и адипонектина, общего и биохимического анализов крови; проведение ЭКГ, трансторакальной ЭхоКГ. Если пациент предъявлял жалобы на боли ангинозного характера, выполнялся стресс-ЭКГ тест (тредмил-тест). При положительной пробе производилась коронарошунтография. Анализировались также частота и причины летальных исходов, послеоперационных осложнений (инфекционно-воспалительных процессов, сердечно-сосудистых событий) в отдаленном периоде КШ.

Результаты

Динамика гликемии у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа в послеоперационном периоде коронарного шунтирования в зависимости от метода управления гликемией

У всех больных ИБС вне зависимости от наличия СД выявлена стойкая гипергликемия, которая сохранялась в течение 48 часов после операции. В подгруппе пациентов с ИБС и СД 2 типа, которым осуществлялась НПИИ, наблюдалось постепенное, без резких колебаний снижение уровня глюкозы, по данным НМГ, в течение 48 часов после операции, причем через 12 часов концентрация глюкозы в данной подгруппе была значимо ниже ($p = 0,021$), чем во второй (*рис. 1*).

При НПИИ через 12 часов после операции уровень глюкозы в большинстве случаев (62,5%, n=15) находился в диапазоне допустимых значений (4–10 ммоль/л). Напротив, среди пациентов, которым делали внутривенные инъекции инсулина, целевой уровень гликемии отмечался лишь у 21,4% (n=6) ($p = 0,003$). В обеих подгруппах больных ИБС и СД 2 типа ни одного эпизода гипогликемии (уровень глюкозы менее 3,9 ммоль/л) не зарегистрировано.

Динамика уровней провоспалительных медиаторов у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа в послеоперационном периоде коронарного шунтирования в зависимости от метода управления гликемией

Согласно полученным данным, в обеих подгруппах больных ИБС и СД 2 типа выявлено статистически значимое ($p = 0,0001$; $p = 0,0001$ соответственно) повышение уровня вч-СРБ в раннем послеоперационном периоде (в течение 12 часов). Однако при НПИИ его концентрация через 12 часов после операции стала значимо ниже, чем во второй подгруппе ($p = 0,0001$) (*рис. 2*).

В ходе корреляционного анализа у больных ИБС и СД 2 типа найдена прямая связь между содержанием вч-СРБ через 12 часов после операции и частотой развития ПКТС в раннем послеоперационном периоде (r = 0,4; p = 0,012), а также длительностью госпитализации (r = 0,5; p = 0,001).

Уровень RANTES до операции был сопоставимым в обеих подгруппах. На 7-е сутки после КШ он увеличился RANTES, однако в подгруппе НПИИ его концентрация была статистически значимо ниже (p = 0,035) (*рис. 3*). По данным корреляционного анализа, у больных ИБС и СД 2 типа выявлена прямая связь между уровнем RANTES на 7-е сутки и частотой ПКТС в раннем послеоперационном периоде (r = 0,74; p = 0,023).

Динамика содержания адипокинов у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа в послеоперационном периоде коронарного шунтирования в зависимости от метода управления гликемией

Концентрация лептина до операции была сходной в обеих подгруппах больных ИБС и СД 2 и не превышала допустимые референсные значения (2,0–11,1 нг/мл). У женщин она составляла 47,59 [10,72; 150,2] нг/мл, у мужчин — 19,76 [5,39; 29,72] нг/мл (p = 0,004).

У больных ИБС и СД 2 типа на 7-е сутки после КШ наблюдалось повышение уровня лептина в обеих подгруппах независимо от метода коррекции гликемии. Однако в подгруппе НПИИ уровень лептина оказался значимо ниже, чем при внутривенном болюсном введении инсулина, согласно внутрибольничному протоколу (p = 0,039). Через год после операции уровень лептина стал сопоставимым в обеих подгруппах (*рис. 4*).

По данным корреляционного анализа, у всех больных независимо от наличия СД 2 типа выявлена прямая связь между уровнем лептина до операции и содержанием глюкозы, вч-СРБ через 12 часов после КШ (r = 0,3 p = 0,008; r = 0,2 p = 0,031 соответственно).

Отмечены сильная прямая связь между уровнем лептина на 7-е сутки и частотой ПКТС в раннем послеоперационном периоде (r = 0,725 p = 0,027) и обратная его связь с использованием помпы в раннем послеоперационном периоде (r = –0,73 p = 0,025).

В обеих подгруппах больных ИБС и СД 2 типа концентрация адипонектина до операции находилась в диапазоне допустимых значений (8,3 ± 2 пг/мл). На 7-е сутки после КШ она возросла в обеих подгруппах независимо от метода коррекции гипергликемии. Через год после операции уровень адипонектина был значимо выше в подгруппе больных, которым проводилась НПИИ (p = 0,028). У всех больных выявлена отрицательная корреляция между уровнем адипонектина через год после операции и содержанием лептина в раннем послеоперационном периоде (7-е сутки) (r = –0,79 p = 0,021).

В подгруппе больных ИБС и СД 2 типа с НПИИ через год после операции наблюдалась тенденция к уменьшению окружности талии (до операции — 111,0 [105,0;

117,75] см, через год — 108,0 [94,0; 108,0] см), в то время как у пациентов, которым проводилось его внутривенное болюсное введение, — напротив, к ее увеличению (до операции — 106,0 [94,0; 113,0] см, через год — 109,0 [99,0; 117,0] см).

По данным корреляционного анализа, в обеих подгруппах больных ИБС и СД 2 типа найдены сильная положительная связь между окружностью талии и уровнем лептина ($r = 1$; $p = 0,01$) и отрицательная связь между окружностью талии и содержанием адипонектина через год после операции ($r = –0,2$; $p > 0,05$).

Анализ осложнений в раннем послеоперационном периоде и длительности госпитализации в зависимости от метода управления гликемией

В раннем послеоперационном периоде один больной ИБС без СД 2 типа умер в результате острой сердечной недостаточности, возникшей из-за тромбоза шунтов. Проанализировав общее число осложнений в раннем послеоперационном периоде, мы обнаружили, что чаще всего у пациентов после КШ встречался ПКТС ($n = 45$). При НПИИ он возникал значимо реже, чем при внутривенном болюсном введении инсулина ($p = 0,03$)

Длительность госпитализации у больных ИБС и СД 2 типа при НПИИ составила 9,0 [8,25; 10;75] дней, при внутривенном болюсном введении инсулина — 12,0 [10,0; 14,0] дней ($p = 0,007$). По данным корреляционного анализа, увеличение длительности госпитализации было главным образом обусловлено развитием ПКТС ($r = 0,63$, $p = 0,0001$).

Анализ осложнений в отдаленном послеоперационном периоде в зависимости от метода управления гликемией

Через год после операции КШ обследованы 83 пациента — 40 больных ИБС и СД 2 типа и 43 без СД 2 типа. В отдаленном послеоперационном периоде один человек с ИБС без СД 2 типа умер по причине острого коронарного синдрома. У двух пациентов с ИБС и СД 2 типа произведена повторная операция реваскуляризации миокарда методом стентирования нативных артерий. Применение помпы для непрерывного введения инсулина в раннем послеоперационном периоде не влияло на рецидивы стенокардии напряжения и развитие других неблагоприятных событий в отдаленном послеоперационном периоде.

В клинической практике больные ИБС и СД 2 типа встречаются чрезвычайно часто и требуют особого внимания и грамотного ведения, поскольку наличие СД 2 типа у пациентов с ИБС увеличивает риск фатальных осложнений в послеоперационном периоде КШ в несколько раз. Мы продемонстрировали возможность безопасного применения альтернативного метода коррекции гликемии — НПИИ с учетом данных НМГ — и его бóльшую эффективность в сравнении со стандартным внутрибольничным протоколом. Но необходим дальнейший поиск наиболее экономически и клинически привлекательных

технологий для осуществления качественного управления периоперационной гликемией и снижения риска развития осложнений после хирургических вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения. URL: https://www.who.int/ (дата обращения - 15.11.2023).
2. Российский статистический ежегодник. 2022: стат.сб./Росстат.М.;2022.691 с.
3. Monlun M., Rigalleau V., Blanco L., Momammedi K. et al. Chronic low grade inflammation in type 2 diabetes — activation of the inflammasomes by circulating metabolites. Diabetes. 2018;67(suppl.1):1726-P. DOI: 10.2337/db18-1726-P
4. Gramlich Y., Daiber A., Buschmann K., Oelze M. et al. Oxidative stress in cardiac tissue of patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of overweight and obesity. Oxid. Med. Cell Longev. 2018: 2018:6598326. DOI: 10.1155/2018/6598326
5. Galindo R.J., Fayfman M. Umpierrez G.E. Perioperative management of hyperglycemia and diabetes in cardiac surgery patients. Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 2018;47(1):203–22. DOI: 10.1016/j.ecl.2017.10.005

Таблица. Клинико-инструментальные характеристики больных ишемической болезнью сердца (ИБС), перенесших аортокоронарное шунтирование

Показатели	**СД2+ n=52**	**СД2- n=53**	**p**
Возраст, лет	63,25 [60,0; 68,0]	62,0 [59,0; 65,0]	0,047
Женский пол,%	32,7	18.8	ns
ИМТ,кг/м^2	30,45 [28,4; 32,9]	28,7 [26,8; 31,7]	0,029
Продолжительность ИБС, лет	4 [2; 11]	3,0 [1,0; 7,5]	ns
Постинфарктный кардиосклероз, %	64,7	52,8	ns
Стентирование в анамнезе,%	22,4	15,7	ns
Артериальная гипертензия,%	94,1	81,1	ns
Ожирение,%	60,8	45,2	ns
Острое нарушение мозгового кровообращения,%	9,8	1,8	ns
Хроническая ишемия нижних конечностей,%	5,8	7,6	ns
Фибрилляция предсердий,%	8,3	6,1	ns
Гипотиреоз, %	27,4	18,9	ns
ТТГ, мкМЕ/мл	1,35 [0,99; 2,25]	1,77 [1,05; 2,55]	ns
Креатинин, мкмоль/л	81,3 [73,9; 100,5]	84,3 [77,5; 103,0]	ns
СКФ, мл/мин	75,5 [63,0; 90,75]	85,0 [67,0; 92,0]	ns
вч-СРБ, мг/л * *>3 мг/л – высокий риск ССЗ*	0,14 [0,07; 0,35]	0,26 [0,08; 0,64]	ns
Общий холестерин, ммоль/л	4,3 [3,67; 4,9]	4,5 [3,82; 5,29]	ns
Триглицериды, ммоль/л	1,79 [1,14; 2,29]	1,36 [0,9; 1,97]	ns
ЛПНП, ммоль/л	2,35 [1,75; 2,87]	2,56 [1,94; 3,25]	ns
ЛПВП, ммоль/л	1,08 [0,99; 1,13]	1,19 [1,0; 1,5]	ns
Глюкоза в плазме венозной крови, *ммоль/л*	*7,09 [5,5; 8,7]*	*5,4 [4,9; 6,2]*	0,0005
Гликированный гемоглобин, %	*6,8 [6,25; 7,66]*	*5,4 [5,18; 5,8]*	0,000001
ФВ ЛЖ, %	60 [55,5; 64,0]	62 [57,85; 65]	ns
КДО, мл	129 [107,3; 161,3]	130 [113,0; 147,5]	ns
МЖП, мм	13,0 [12,0; 14,8]	13,0 [12,0; 14,0]	ns
ЛП, см	4,3 [4,0; 4,7]	4,1 [3,8; 4,4]	ns
ИК (%)	38,5	43,4	ns

Доля событий, %

Примечания: СД2 – сахарный диабет 2 типа; ИМТ – индекс массы тела; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ТТГ- тиреотропный гормон; вч- СРБ – высокочувствительный С- реактивный белок; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ФВ – фракция выброса; КДО – конечный диастолический объем; МЖП – межжелудочковая перегородка; ЛП-левое предсердие; ИК – искусственное кровообращение

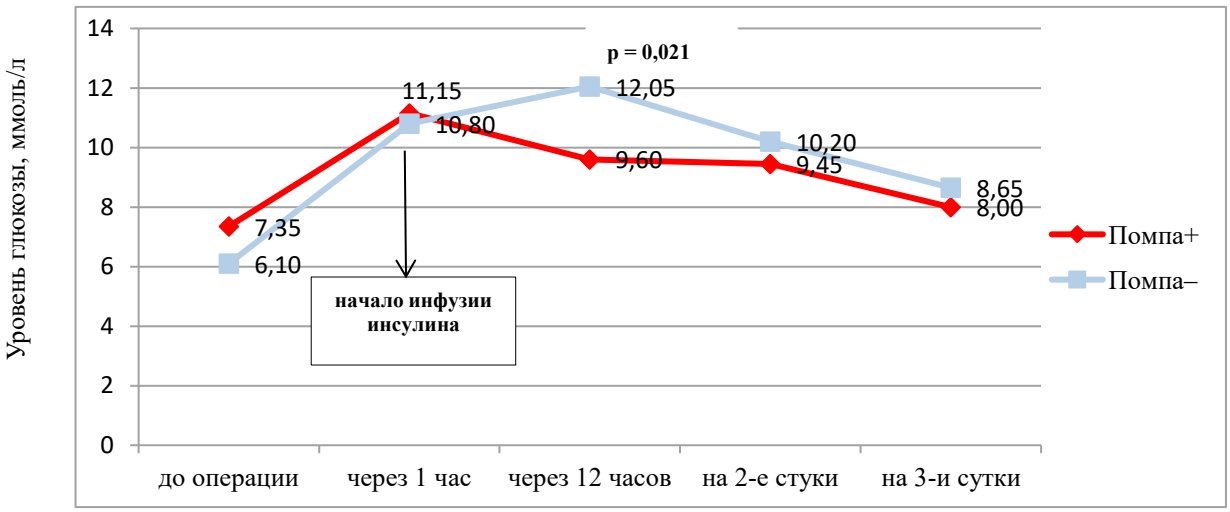


Рис. 1. Динамика уровня гликемии у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа при непрерывной подкожной инфузии инсулина (помпа+) и при внутривенном болюсном введении инсулина (помпа–) в послеоперационном периоде, согласно данным непрерывного мониторирования уровня глюкозы

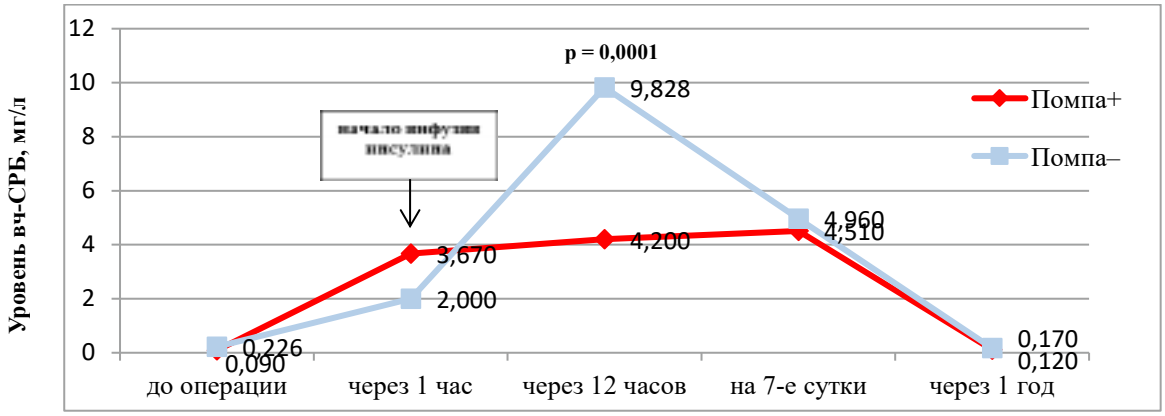


Рис. 2. Динамика уровня высокочувствительного С-реактивного белка (вч-СРБ) у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа при непрерывной подкожной инфузии инсулина (помпа+) и при внутривенном болюсном введении инсулина (помпа–) в периоперационном периоде

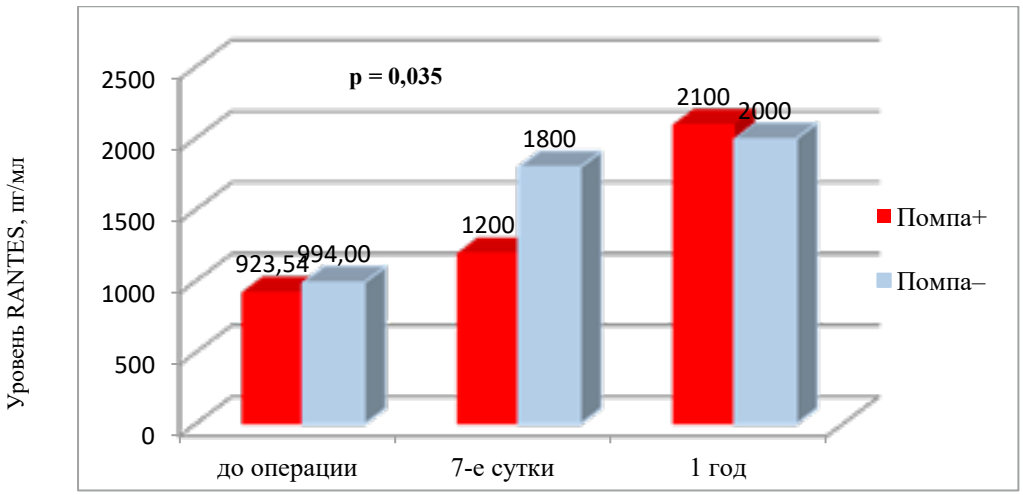


Рис. 3. Динамика уровня RANTES у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа при непрерывной подкожной инфузии инсулина (помпа+) и при внутривенном болюсном введении инсулина (помпа–) в послеоперационном периоде

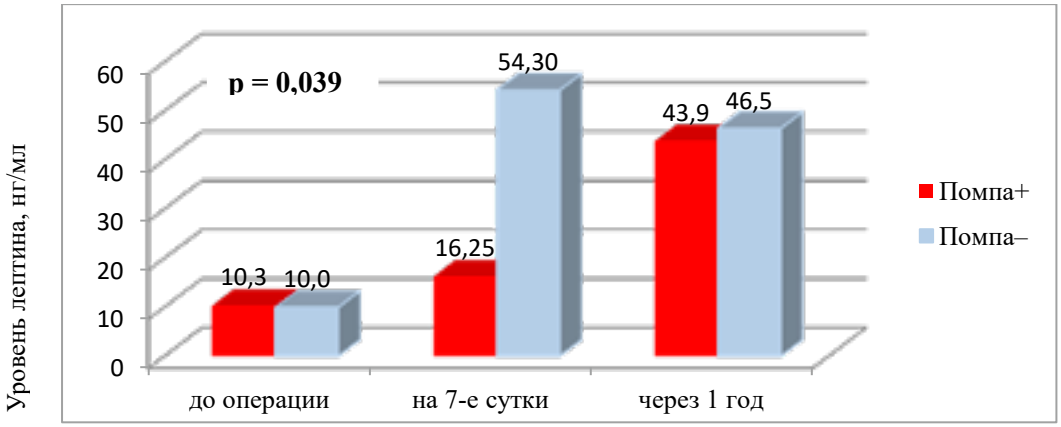


Рис. 4. Динамика уровня лептина у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа при непрерывной подкожной инфузии инсулина (помпа+) и при внутривенном болюсном введении инсулина (помпа–) в послеоперационном периоде

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕИНВАЗИВНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ЭЛАСТИЧНОСТИ СТЕНКИ ОБЩЕЙ СОННОЙ АРТЕРИИ У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

М.М. Лысенко[1], А.О. Шевченко[1, 2,3], И.Ю. Тюняева[1]

[1]ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

[2]Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Российская Федерация

[3]ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедра кардиологии, Москва, Российская Федерация

Цель: провести сравнительный анализ значений показателя эластичности стенки общей сонной артерии у реципиентов сердца, печени, почек и больных, ожидающих трансплантацию сердца и изучить его прогностическое значение. **Материалы и методы.** В исследование были включены реципиенты сердца (n=178), печени (n=30) и почки (n=35), а также больные терминальной сердечной недостаточностью, включенные в лист ожидания трансплантации сердца (n=33). Были проанализированы результаты лабораторных и инструментальных методов обследования, характер и частота развития осложнений. ***Результаты.*** Реципиенты сердца с низким показателем эластичности стенки общей сонной артерии старше по возрасту, имеют больший диаметр восходящей аорты, конечно-диастолический объем левого желудочка, толщину комплекса интима-медиа и каротидно-феморальную скорость распространения пульсовой волны, относительно пациентов с трансплантированным сердцем и высоким показателем эластичности стенки общей сонной артерии ($p<0,05$). При этом у реципиентов сердца с высоким показателем эластичности стенки общей сонной артерии реже используются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, антиагреганты, антикоагулянты, у них реже встречается атеросклероз ($p<0,05$). Наличие атеросклероза у реципиентов печени также связано со снижением показателя эластичности стенки общей сонной артерии ($p=0,006$). Низкие значение показателя эластичности общей сонной артерии (менее 0,044) достоверно связаны с менее благоприятным прогнозом выживаемости без нежелательных событий после операции ортотопической трансплантации сердца ($p=0,03$). **Заключение**. Реципиентам сердца и печени наряду со стандартными исследованиями, рекомендовано проводить ультразвуковое исследование общей сонной артерии с оценкой показателя эластичности стенки общей сонной артерии. При величине показателя эластичности стенки общей

сонной артерии менее 0,044 рекомендовано дополнительное обследование в специализированном стационаре.
Ключевые слова: эластичность сосудистой стенки, общая сонная артерия, трансплантация почки, трансплантация печени, трансплантация сердца, лист ожидания.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE INDEX OF COMMON CAROTID ARTERIAL WALL ELASTICITY IN SOLID ORGAN TRANSPLANT RECIPIENTS

M.M. Lysenko[1], A.O. Shevchenko[1, 2,3], I.Yu. Tyunyaeva[1]

[1] V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

[3] N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Aim: to conduct a comparative analysis of the values of the elasticity index of the wall of the common carotid artery in heart, liver, kidney recipients and patients awaiting heart transplantation and to study its prognostic value. **Materials and methods.** The study included heart (n=178), liver (n=30) and kidney (n=35) recipients, as well as patients with end-stage heart failure on the heart transplant waiting list (n=33). The results of laboratory and instrumental examination methods, the nature and frequency of complications were analyzed. **Results.** Heart recipients with low wall elasticity of the common carotid artery are older in age, have a larger diameter of the ascending aorta, left ventricular end-diastolic volume, intima-media thickness and carotid-femoral pulse wave velocity, relative to patients with a transplanted heart and a high elasticity index walls of the common carotid artery ($p<0.05$). At the same time, heart recipients with a high elasticity of the wall of the common carotid artery are less likely to use angiotensin-converting enzyme inhibitors, antiplatelet agents, and anticoagulants, and they are less likely to have atherosclerosis ($p <0.05$). The presence of atherosclerosis in liver recipients is also associated with a decrease in the elasticity of the wall of the common carotid artery ($p=0.006$). Low values of the elasticity index of the common carotid artery (less than 0.044) are significantly associated with a less favorable prognosis of survival without adverse events after orthotopic heart transplantation ($p = 0.03$). **Conclusion.** For heart and liver recipients, along with standard studies, it is recommended to conduct an ultrasound examination of the common carotid artery. If the elasticity index of the wall of the common carotid artery is less than 0.044, additional examination in a specialized hospital is recommended.

Keywords: elasticity, carotid artery, kidney transplantation, liver transplantation, heart transplantation, waiting list.

Введение

Во всем мире число различных пересадок органов с каждым годом только увеличивается и в 2021 году достигло 144302 [1]. В России в 2022 году было выполнено 2551 трансплантаций органов, при этом с 2007 года этот показатель вырос почти в три раза, а по сравнению с 2021 годом число трансплантаций органов в нашей стране увеличилось на 10% [2]. В 2023 году число трансплантаций достигло 3002.

Стоит отметить, что трансплантация солидных органов в настоящее время обеспечивает наилучшую выживаемость для многих пациентов, однако в трансплантологии все еще существуют ряд проблем, ухудшающих исходы трансплантации, включая дисфункции трансплантата, его отторжение, а также заболевания сердечно-сосудистой системы у реципиентов органов. Поэтому особую актуальность приобретает поиск эффективного способа оценки риска развития нежелательных событий у реципиентов солидных органов. Среди них многообещающим является оценка показателя эластичности стенки (ПЭС) общей сонной артерии (ОСА). На сегодняшний день показано, что эластичность артериальной сосудистой стенки является важным прогностическим показателем и маркером риска развития сердечно-сосудистых заболеваний на доклиническом этапе, а также сердечно-сосудистой смертности в популяции [3]. Однако в настоящее время нет исследований, посвященных изучению клинического значения неинвазивного ПЭС ОСА у реципиентов солидных органов. В связи с этим **целью** данного исследования стал сравнительный анализ значений ПЭС ОСА у реципиентов сердца, печени, почек и больных, ожидающих трансплантацию сердца и изучение его прогностического значения.

Материалы и методы

В данное исследование было включено 276 пациентов, среди которых были реципиенты сердца (n=178), печени (n=30) и почки (n=35), оперированные в Российской Федерации в период с 2003 по 2023 годы, а также больные терминальной сердечной недостаточностью, включенные в лист ожидания трансплантации сердца (n=33). Из них 199 лиц мужского пола и 77 – женского пола. Средний возраст пациентов составил 47,0±2,2 года.

Критериями включения в исследование являлись: возраст 10-75 лет; пересадка сердца, печени, почки в анамнезе или наличие терминальной сердечной недостаточности с включением в лист ожидания трансплантации сердца.

Критерии исключения включали: возраст старше 75 лет или младше 10 лет, наличие острого отторжения трансплантированного органа, клинически значимое нарушение

функции печени, почки, сердца, признаки передозировки ингибиторов кальциневрина, а также наличие острых инфекций или обострения хронических заболеваний.

Всем исследуемым пациентам выполняли стандартные обследования согласно установленному протоколу. Помимо рутинных обследований, всем участникам проводили ультразвуковое исследование ОСА и определение скорости пульсовой волны (СПВ). Обследование проводилось при помощи ультразвукового аппарата Vivid S70 GE. ПЭС ОСА рассчитывался как отношение разницы площади поперечного сечения ОСА в систолу и диастолу к систолодиастолической разнице артериального давления (АД).

Анализ и обработка результатов исследования производились на компьютере с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2019, интерактивной среды Google Colab и прикладных программ для научно-технических расчетов Wizard Pro. С целью определения нормальности выборки использовался критерий Шапиро-Уилка.

Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики. Для сравнения зависимых выборок рассчитывали парный критерий Вилкоксона. Для сравнения независимых выборок применяли U-критерий Манна-Уитни. При множественной проверке гипотез мы использовали поправку Бонферрони.

Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для анализа количественных и бинарных переменных использовался бисериальный коэффициент корреляции. Для последующего анализа отбирались корреляционные связи как минимум средней силы ($r \geq 0,5$).

Для оценки выживаемости без нежелательных событий применялся метод регрессионного анализа выживаемости Каплана-Майера. Анализ выживаемости без нежелательных событий определяли с помощью логрангового (log-rank) критерия. Регрессионный анализ по Коксу был применен для расчета относительного риска развития нежелательных событий.

Во всех случаях $p<0,05$ считали статистически значимым. Результаты приведены в следующем виде: M±SD, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования было отмечено, что у реципиентов сердца и включенных в лист ожидания трансплантации сердца дотрансплантационный диагноз был представлен прежде всего дилатационной кардиомиопатией и ишемической кардиомиопатией, у всех реципиентов печени был цирроз печени, у реципиентов почки преобладал гломерулонефрит.

Во всех группах пациентов трансплантация проводилась преимущественно после 2014 года. Повторные операции, как правило, в исследуемых группах отсутствовали. Однако у реципиентов почки они наблюдались в 17% случаев.

Каротидно-феморальная СПВ и ТИМ статистически не различались в группах. Однако во всех группах пациентов каротидно-феморальная СПВ увеличивалась с возрастом, что также было отмечено рядом других авторов [4, 5].

ПЭС ОСА в группе пациентов, включенных в лист ожидания трансплантации сердца, составила 0,0017±0,0013, в группе реципиентов печени – 0,0013±0,0005, в группе реципиентов почки – 0,0016±0,0006, в группе реципиентов сердца – 0,0012±0,0006 (рис. 1).

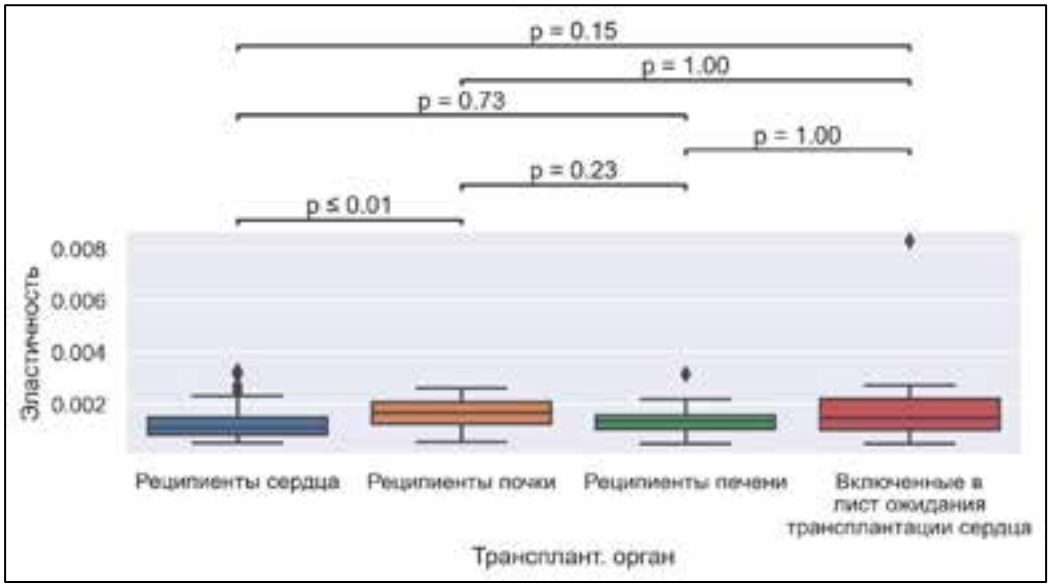


Рис. 1. ПЭС ОСА в исследуемых группах пациентов

Fig. 1. Elasticity index of the wall of the common carotid artery in the studied groups of patients

Как видно из рисунка 1, в группе реципиентов сердца ПЭС ОСА достоверно был ниже, чем у реципиентов почки ($p<0,05$).

Также нами была подсчитана медиана ПЭС в каждой из групп и по данному показателю внутри групп пациенты были разбиты на две выборки (табл. 1): высокая эластичность (ПЭС ОСА больше медианы) и низкая эластичность (ПЭС ОСА меньше медианы).

Таблица 1. Клинические и демографические показатели у пациентов с высокой и низкой эластичностью ОСА

Clinical and demographic parameters in patients with high and low elasticity of the common carotid artery

Показатель	ПЭС ОСА	Группы пациентов			
		Включенные в лист ожидания трансплантации сердца	Реципиенты печени	Реципиенты почки	Реципиенты сердца
Диаметр восходящей аорты, см	высокая эластичность	3,09±0,55	2,79±0,5	3,26±0,45	3,04±0,35
	низкая эластичность	3,16±0,51	3,0±0,42	3,12±0,36	3,23±0,4
Возраст, лет	высокая эластичность	44,88±14,78	36,8±20,28	47,18±13,68	42,32±16,57
	низкая эластичность	51,76±9,65	46,07±14,24	44,83±10,9	53,05±9,1
Диастолическое АД, мм рт. ст.	высокая эластичность	65,94±7,12	72,0±8,62	82,94±10,47	85,0±10,27
	низкая эластичность	72,0±9,01	75,33±12,46	80,83±8,54	80,77±7,74
Толщина задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ), мм	высокая эластичность	0,93±0,17	0,86±0,2	1,12±0,18	1,13±0,14
	низкая эластичность	0,89±0,09	0,99±0,12	1,15±0,17	1,11±0,13
Конечно-диастолический объем левого желудочка (КДО ЛЖ), мл	высокая эластичность	242,94±84,14	83,13±28,17	113,24±42,44	71,47±28,63
	низкая эластичность	248,0±95,66	81,33±22,0	89,33±25,24	77,56±20,61
Каротидно-феморальная СПВ, м/с	высокая эластичность	6,67±1,69	6,09±1,66	6,76±2,03	7,0±2,54
	низкая эластичность	7,81±1,83	6,57±1,51	6,61±0,97	8,31±2,84
Скорость клубочковой фильтрации (СКФ), CKD-EPI, мл/мин/1,73 м^2	высокая эластичность	92,3±25,43	108,49±33,36	44,84±23,6	86,57±34,38
	низкая эластичность	74,62±28,29	81,93±25,45	43,41±16,42	73,79±22,98
Толщина комплекса интима-медиа (ТИМ), см	высокая эластичность	0,08±0,03	0,07±0,02	0,07±0,02	0,07±0,02
	низкая эластичность	0,08±0,02	0,08±0,02	0,07±0,01	0,08±0,02

У реципиентов сердца статистически достоверные различия были получены по следующим показателям: возраст (42,32±16,57 vs 53,05±9,1, p=0,004); диаметр восходящей аорты (3,04±0,35 vs 3,23±0,4, p=0,035); КДО ЛЖ (71,47±28,63 vs 77,56±20,61, p=0,034); ТИМ (0,07±0,02 vs 0,08±0,02, p=0,007); каротидно-феморальная СПВ (7,0±2,54 vs 8,31±2,84, p=0,014). Кроме того, было отмечено, что у реципиентов сердца с высоким ПЭС ОСА реже

используются иАПФ (p=0,024), антиагреганты, антикоагулянты (p=0,03), у них реже встречался атеросклероз (p<0,001). Следовательно, реципиенты сердца с низким ПЭС ОСА старше по возрасту, имеют больший диаметр восходящей аорты, КДО ЛЖ, ТИМ и каротидно-феморальную СПВ, относительно реципиентов сердца с высоким ПЭС ОСА. У реципиентов сердца с высоким ПЭС ОСА реже используются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), антиагреганты, антикоагулянты, у них реже наблюдался атеросклероз.

У реципиентов печени статистически достоверные различия были получены по следующим показателям: СКФ (108,49±33,36 vs 81,93±25,45, p=0,014), ЗСЛЖ (0,86±0,2 vs 0,99±0,12, p= 0,0498), ТИМ (0,07±0,02 vs 0,08±0,02, p=0,003). Также в группе реципиентов печени была получена отрицательная корреляционная связь между эластичностью и уровнем липопротеинов высокой плотности (r=-0,527, p<0,001), ТИМ (r=-0,503, p=0,005). Кроме того, при вычислении точечно-бисериальной корреляции была получена статистически достоверная связь между эластичностью и наличием атеросклероза (r=-0,492, p=0,006). Следовательно, реципиенты печени с низким ПЭС ОСА имеют меньшую СКФ, большую ЗСЛЖ, ТИМ, у них чаще наблюдается атеросклероз. При этом в данной группе пациентов по мере роста ПЭС ОСА снижается уровень липопротеинов высокой плотности, ТИМ.

У реципиентов почки достоверные различия были получены только по диаметру и площади ОСА в диастолу, однако эти показатели использовались при расчете ПЭС ОСА. Как было отмечено ранее, статистически достоверные различия ПЭС ОСА были получены лишь между группами реципиентов сердца и почки (0,0012±0,0006 и 0,0016±0,0006 соответственно, p<0,05). При этом мы видим, что в отличие от реципиентов почки у реципиентов сердца ПЭС ОСА связан с факторами, потенциально обладающими негативным действием на риск развития нежелательных событий.

У пациентов, включенных в лист ожидания трансплантации сердца, достоверные различия были получены только по диастолическому АД (65,94±7,12 vs 72,0±9,01, p=0,044).

Схожих данных о связи ПЭС ОСА с клиническими и демографическими показателями у реципиентов сердца, печени, почек и больных, ожидающих трансплантацию сердца, в современной научной литературе мы не обнаружили.

Изучение прогностического значения ПЭС ОСА выполнялось у 101 реципиента сердца. В качестве конечных точек (нежелательных событий) оценивались смерть от всех причин и выявление клинически значимой болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС). Средний период наблюдения после определения функциональных и морфометрических показателей периферических артерий и аорты составил 2540,9±224,6

суток. Средний период наблюдения после операции ортотопической трансплантации сердца (ОТТС) составил 3010,8±280,0 дней.

В течение данного периода были выявлены следующие события:

а) смерть – 41;

б) БКАПС со стентированием – 18;

в) эпизоды гуморального отторжения – 3;

г) ретрансплантация сердца – 2.

Среди причин смерти можно выделить следующие:

а) внезапная сердечная смерть (ВСС) – 14 случаев;

б) отторжение – 8 случаев;

в) онкологические заболевания – 8 случаев;

г) дисфункция трансплантата – 5 случаев.

Кроме того, в единичных случаях среди причин смерти отмечались: COVID-19, цирроз печени, полиорганная недостаточность (ПОН), синдром приобретенного иммунного дефицита (СПИД), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), инфекционное заболевание.

Медиана значений эластичности ОСА в данной выборке реципиентов сердца составила 0,044. Кривые выживаемости Каплана-Мейера в подгруппах пациентов со значениями эластичности больше и меньше медианы распределения представлены на рисунке 2.

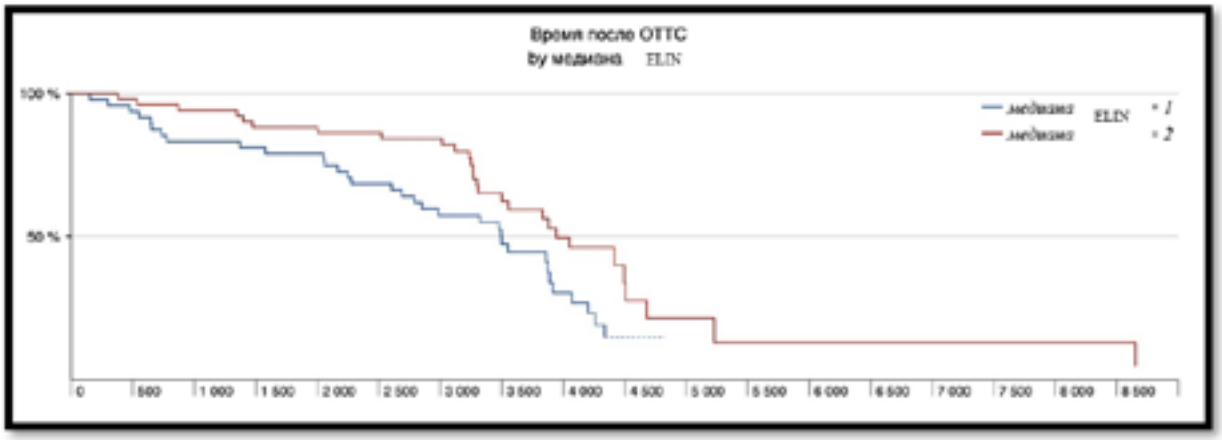


Рис. 2. Кривые выживаемости Каплана-Мейера без нежелательных событий в подгруппах больных с различной эластичностью стенки ОСА. *(ELIN – показатель эластичности сосудистой стенки)*

Fig. 2. Kaplan-Meier curves without adverse events in subgroups of patients with different elasticity of the wall of the common carotid artery. *(ELIN – the index of wall elasticity)*

Среднее время до наступления комбинированной конечной точки в подгруппе реципиентов сердца со значениями эластичности ОСА меньше 0,044 составило: 3338,1±1357,2 дня. В течение периода наблюдения 21 пациент из этой подгруппы погиб (ВСС – 7, отторжение – 5, онкология – 5, дисфункция трансплантата – 3 и COVID-19 – 1 пациент), у 11 пациентов выполнено стентирование коронарных артерий сердечного трансплантата в связи с выявлением БКАПС.

Среднее время до наступления комбинированной конечной точки в подгруппе реципиентов сердца со значениями эластичности ОСА больше 0,044 составило: 2676,9±1414,8 дня. В течение периода наблюдения 19 пациентов из этой подгруппы погибло (ВСС – 7, отторжение – 3, онкологическое заболевание – 3, дисфункция трансплантата – 2, СПИД – 1, инфекционное заболевание – 1, ПОН – 1 и ОНМК – 1 пациент), у 7 пациентов выполнено стентирование коронарных артерий сердечного трансплантата в связи с выявлением БКАПС.

Сравнение кривых выживаемости лог-ранговым методом показало, что в подгруппе реципиентов сердца со значениями эластичности ОСА больше 0,044 выживаемость без нежелательных событий достоверно лучше, чем в подгруппе пациентов с низкими значениями ПЭС ОСА (p=0,03). При этом изучение связи выживаемости без нежелательных событий от возраста, пола, ТИМ, СПВ не выявило достоверных зависимостей.

Заключение

Таким образом, была выявлена достоверная связь показателя эластичности артериальной стенки ОСА с выживаемостью без нежелательных событий. Кроме того, обнаружена связь ПЭС ОСА с факторами, потенциально обладающими негативным действием на риск развития нежелательных событий. Поэтому реципиентам сердца и печени наряду со стандартными исследованиями, рекомендовано проводить ультразвуковое исследование ОСА с оценкой ПЭС ОСА. При этом при величине ПЭС ОСА менее 0,044 рекомендовано дополнительное обследование в специализированном стационаре.

Учитывая небольшие размеры выборок реципиентов печени, почки, а также больных терминальной сердечной недостаточностью, включенных в лист ожидания трансплантации сердца, необходимо проведение дополнительных исследований на более крупных выборках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global Observatory on Donation and Transplantation [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.transplant-observatory.org/contador1/ (дата обращения: 09.10.2023).

2. Готье С.В., Хомяков С.М. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2022 году. XV сообщение регистра Российского трансплантологического общества. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2023;25(3):8-30. Gautier S.V., Khomyakov S.M. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2022. 15th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs. 2023;25(3):8-30. [In Russ, English abstract] https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-3-8-30

3. Messas E., Pernot M., Couade M. Arterial wall elasticity: State of the art and future prospects. Diagnostic and Interventional Imaging. 2013; 94(5):561-569. http://dx.doi.org/10.1016/j.diii.2013.01.025

4. Ye C., Pan Y., Xu X., Su S., Snieder H., Treiber F. et al. Pulse wave velocity in elastic and muscular arteries: tracking stability and association with anthropometric and hemodynamic measurements. Hypertension Research. 2016; 39(11):786-791. http://dx.doi.org/10.1038/hr.2016.67

5. Meyer M. L., Tanaka H., Palta P., Cheng S., Gouskova N., Aguilar D. et al. Correlates of Segmental Pulse Wave Velocity in Older Adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. American Journal of Hypertension. 2015; 29(1):114-122. http://dx.doi.org/10.1093/ajh/hpv079

Конфликт интересов Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

ЧРЕЗМЕРНАЯ АДГЕЗИЯ ТРОМБОЦИТОВ, ОПОСРЕДОВАННАЯ ФАКТОРОМ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА, У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ РАЗВИТИЕМ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

С.Д. Охота

ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» МЗ РФ

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) может возникнуть в любом возрасте, в том числе молодом, и ее первым проявлением ранней ИБС часто является инфаркт миокарда (ИМ) [1]. Образование окклюзирующего тромбоза коронарных артерий, обусловливающего развитие ИМ, зависит от состояния системы гемостаза. Фактор фон Виллебранда (ФВ) – белок плазмы, который является участником первичного гемостаза в условиях высокой скорости сдвига в потоке и связывает между собой тромбоциты и эндотелиальный коллаген. ФВ существует в кровотоке в двух конформациях – глобулярной и развернутой. Конформация ФВ зависит от скорости сдвига в сосудах. При низких скоростях сдвига (например, в венах), ФВ остается в глобулярной конформации. При высоких скоростях сдвига (например, в мелких артериях и артериолах или в артериях с выраженным стенозированием) ФВ разворачивается и открывает домены связывания, в частности, с рецептором гликопротеином Ib (GPIb) тромбоцитов – единственным рецептором на неактивированных тромбоцитах, взаимодействующим с ФВ [2]. В последнее время использование микрофлюидных устройств для избирательной оценки различных этапов гемостаза в условиях, максимально приближенных к естественным, находит все большее распространение [3,4]. Однако исследований по оценке адгезии тромбоцитов, опосредованной ФВ, у пациентов с ранним развитием ИБС до сих пор не проводилось.

Материалы и методы

В исследование было включено 84 пациентов со стабильной ИБС: мужчины в возрасте до 55 лет и с манифестацией ИБС до 50 лет, а также женщины в возрасте до 65 лет и с манифестацией ИБС до 60 лет, у которых при коронароангиографии (КАГ) было выявлено гемодинамически значимое поражение коронарных артерий. В контрольную группу было включено 64 пациента: мужчины в возрасте до 55 лет и женщины в возрасте до 65 лет не имеющие клинических проявлений ИБС, у которых не было выявлено стенозирующего коронарного атеросклероза при КАГ и/или компьютерной томографической ангиографии коронарных артерий. Гемодинамически значимым поражением коронарных артерий считали поражение, приводящее к уменьшению диаметра просвета ствола левой коронарной артерии,

и/или магистральной коронарной артерии (передней нисходящей, огибающей, правой), и/или ветви второго порядка диаметром >2 мм на 50% и более.

В исследование не включали пациентов с семейной гиперхолестеринемией, уровнем ХСЛНП >4,9 ммоль/л, нестабильной стенокардией, в первые 2 месяца после перенесенного ИМ, шунтирования или ангиопластики коронарных артерий, с сердечной недостаточностью III-IV функционального класса по NYHA, фракцией выброса левого желудочка <40%, постоянной формой фибрилляции/трепетания предсердий, стенозом устья аорты или левого атриовентрикулярного отверстия, наследственными и приобретёнными коагулопатиями, злокачественными новообразованиями, клиническими и лабораторными признаками острого инфекционного заболевания в течение двух предшествующих месяцев.

Измерение адгезии тромбоцитов к коллагеновой поверхности

В лаборатории клеточного гемостаза института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России создано микрофлюидное устройство для регистрации кинетики адгезии клеток крови к белковой поверхности в условиях контролируемого потока [5]. Устройство состоит из проточной камеры с оптической подложкой с коллагеновым покрытием, перистальтического насоса, обеспечивающего движение крови через проточную камеру, источника лазерного излучения, фотодетектора и аналогово-цифрового преобразователя, подключенного к компьютеру. На первом этапе эксперимента цельная кровь помещалась в микропробирку и подсоединялась к системе, обеспечивающей движение крови в проточной камере. Лазерное излучение направлялось на оптическую подложку проточной камеры, на которую был нанесен коллаген. Рассеянное лазерное излучение улавливалось фотодетектором. При включении устройства цельная кровь двигалась внутри проточной камеры с заданной скоростью. Скорость сдвига при этом составляла ≈1300 $с^{-1}$, что считают умеренным ее повышением, характерным для артерий с умеренным стенозированием просвета. Форменные элементы крови, в первую очередь тромбоциты, проходя внутри проточной камеры, взаимодействовали с коллагеновым покрытием и адгезировали к нему. Это вызывало рассеяние лазерного излучения, которое нарастало по мере увеличения количества адгезированных клеток на поверхности подложки. Регистрируемое фотодетектором рассеянное лазерное излучение преобразовывалось в электрическое напряжение и измерялось в милливольтах (мВ). Таким образом, нарастание электрического напряжения на выходе фотодетектора отражало увеличение степени адгезии клеток к подложке с коллагеновым покрытием. Циркуляция крови в системе и регистрация сигнала фотодетектора осуществлялась в течение 15 минут. Степень адгезии тромбоцитов

определяли по максимальному значению сигнала фотодетектора по окончании 15-минутной циркуляции. Запись и обработка регистрируемого фотодетектором изменения интенсивности рассеянного света производились с помощью программного обеспечения L-Graph2 версия 2.35.16 (L-CARD, РФ), которое позволяла представить эти изменения в виде графика. На втором этапе эксперимента в цельную кровь добавляли 10 мкг мАт к рецепторам GP1b тромбоцитов и повторяли 15-минутную циркуляцию крови через новую проточную камеру. Результаты измерений сопоставляли между группами пациентов.

Статистический анализ

Собранные в ходе исследования количественные данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение, а также в виде медианы и квартилей (25-й и 75-й процентили). Для проверки статистических гипотез о виде распределения использовали критерий Шапиро—Уилка W (Shapiro-Wilk's W test). Для сравнительного анализа данных пациентов обеих групп были использованы методы непараметрической статистики: точный критерий Фишера – при сравнении качественных признаков, U-критерий Манна-Уитни – при сравнении количественных признаков в двух независимых группах. Связь между величиной снижения опосредованной GPIb адгезии тромбоцитов и наличием раннего развития ИБС, выраженную через отношение шансов, оценивали с помощью логистического регрессионного анализа. Величину уровня значимости p принимали равной 0,05. Все тесты были двусторонними. Статистический анализ выполнен при помощи программного обеспечения Statistica v. 6.0 («StatSoft Inc.», США) и SPSS Statistics v. 17.0 («SPSS Inc.», США).

Результаты

Пациенты с ранним развитием ИБС чаще являлись мужчинами, чаще имели низкий уровень ХС ЛВП (<1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин), сахарный диабет, а также чаще являлись злостными курильщиками ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой. Группы не отличались по возрасту, неблагоприятной наследственности в отношении ИБС, исходным высоким значениям ХС ЛНП (>3 ммоль/л), статусу курильщиков (активный или бывший), наличию ожирению и артериальной гипертензией. В 57,2% случаев первым проявлением ИБС был ИМ. Частота возникновения инфаркта миокарда, как первого проявления ИБС, не отличалась у мужчин и у женщин. 79,7% пациентов до включения в исследование подверглись стентированию коронарных артерий, 9,5% больных – шунтированию коронарных артерий.

У пациентов с ранним развитием ИБС значение адгезии тромбоцитов, которое оценивалось по 15-минутному значению интенсивности рассеянного лазерного излучения,

равнялось в среднем 8,3 мВ, а после добавления в кровь мАт к рецепторам GPIb тромбоцитов – 1,7 мВ, что было на 77% (57,2; 84,6) меньше, чем без блокирования рецепторов GPIb (p <0,0001) (рис 1а). У пациентов контрольной группы значение адгезии тромбоцитов после циркуляции цельной крови без добавления в нее мАт к рецепторам GPIb тромбоцитов равнялось в среднем 12,6 мВ, после блокирования мАт рецепторов GPIb – 10,3 мВ, что было на 29,5% (-6,9; 59,3) меньше, чем без блокирования рецепторов GPIb (p=0,03) (рис 1б). Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС была больше, в сравнении с пациентами контрольной группы (p <0,001).

Согласно результатам ROC-анализа, при отрезном значении уменьшения адгезии после блокирования GPIb тромбоцитов равному 45% достигается оптимальное сочетание чувствительности и специфичности – 86% и 67%, соответственно. Площадь под кривой 0,81±0,03 (95% ДИ 0,74-0,87; p <0,001), что позволяет оценить прогностическую силу модели, как очень хорошую.

У пациентов с ранним развитием ИБС медиана уровня ФВ в плазме крови равнялась 111 [43; 354] %, у пациентов контрольной группы – 145 [33; 273] %, что было больше (p = 0,03), чем у пациентов с ранним развитием ИБС. Не было выявлено связи между уровнем ФВ и такими факторами риска ИБС, как мужской пол, возраст, неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, курение, СД, низкий уровень ХС ЛВП и повышенный уровень ХС ЛНП. Уровень ФВ был выше (p = 0,04) у пациентов с артериальной гипертензией, в сравнении с пациентами без нее, и равнялся, соответственно, 129 [98; 183] % и 110 [75; 132] %.

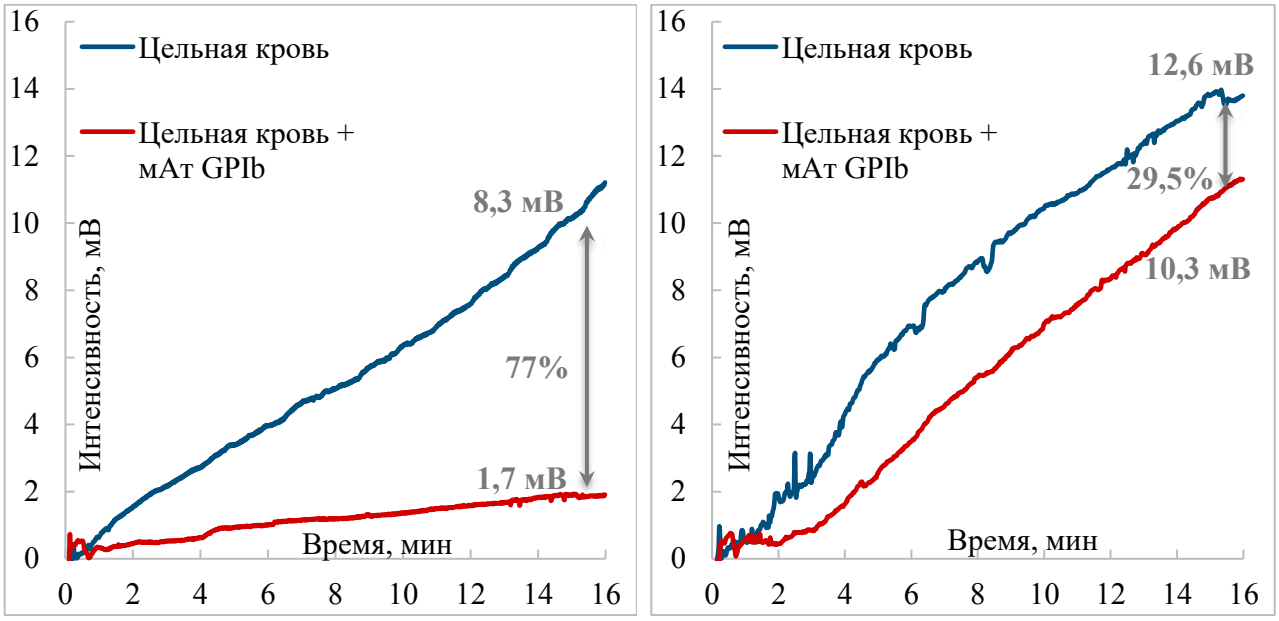


Рис. 1а. Характерные кривые изменения интенсивности рассеянного лазерного излучения у пациентов с ранним развитием ИБС до и после блокирования GPIb тромбоцитов

Рис. 1б. Характерные кривые изменения интенсивности рассеянного лазерного излучения у пациентов контрольной группы до и после блокирования GPIb тромбоцитов

В группе пациентов с ранним развитием ИБС антиагрегантную терапию принимали 84 пациента. 22 пациента получали АСК, 10 пациентов – блокатор P2Y12 рецепторов тромбоцитов клопидогрел, 41 пациент – клопидогрел в сочетании с АСК, 11 пациентов – блокатор P2Y12 рецепторов тромбоцитов тикагрелор в сочетании с АСК. В контрольной группе антиагрегантную терапию принимали 11 пациентов. Все они получали АСК. Остальные 53 пациента не получали антиагрегантной терапии. Как у пациентов с ранним развитием ИБС, так и у пациентов контрольной группы уровень ФВ не зависел от режима антиагрегантной терапии (рис. 2а и 2б). Корреляционный анализ не продемонстрировал связи между уровнем ФВ и значениями исходной адгезии тромбоцитов, между уровнем ФВ и значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb, а также между уровнем ФВ и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ, как у пациентов с ранним развитием ИБС, так и у пациентов контрольной группы.

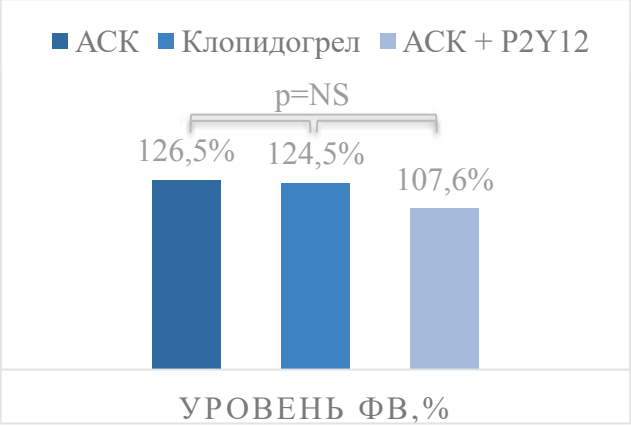


Рис. 2а. Уровень ФВ в зависимости от принимаемой антиагрегантной терапии у пациентов с ранним развитием ИБС

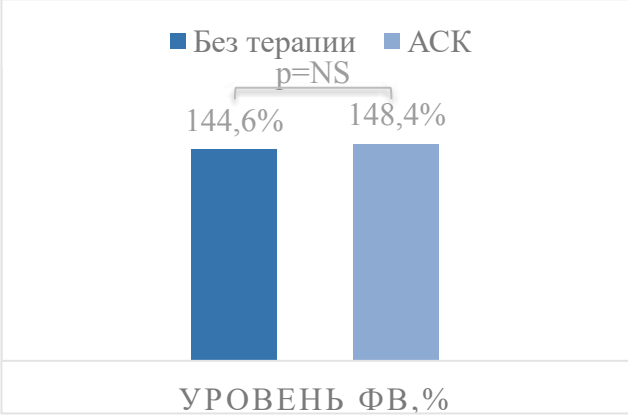


Рис. 2б. Уровень ФВ в зависимости от принимаемой антиагрегантной терапии у пациентов контрольной группы

Влияние антиагрегантной терапии на ФВ-опосредованную адгезию тромбоцитов при повышенной скорости сдвига. У пациентов с ранним развитием ИБС, которые принимали монотерапию АСК медиана исходной адгезии тромбоцитов была равна 12 [9,9; 14,8] мВ, что было выше, чем у пациентов, принимавших клопидогрел, у которых медиана исходной

адгезии тромбоцитов была равна 6,2 [4,5; 7,5] мВ (p = 0,004), или у пациентов, принимавших двойную антигрегантную терапию (АСК + ингибитор P2Y12), у которых медиана исходной адгезии тромбоцитов была равна 7,7 [5; 13,6] мВ (p = 0,02) (рис. 3). У пациентов с ранним развитием ИБС, которые принимали монотерапию АСК, медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb рецепторов была равна 3,2 [1,5; 7,4] мВ, что было выше, чем у пациентов принимавших клопидогрел, у которых медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb рецепторов была равна 1,8 [0,7; 2,9] мВ (p = 0,04), или у пациентов принимавших двойную антигрегантную терапию, у которых медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb рецепторов была равна 1,6 [1,2; 2,2] мВ (p = 0,006) (рис. 3).

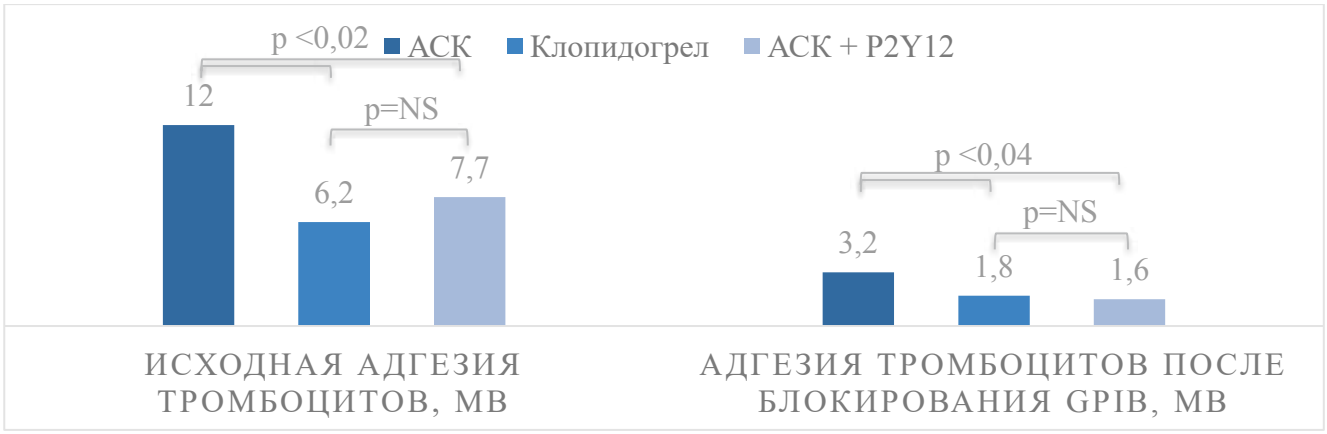


Рис. 3. Адгезия тромбоцитов до и после блокирования GPIb рецепторов у пациентов с ранним развитием ИБС в зависимости от режима антиагрегантной терапии

У пациентов контрольной группы, принимавших АСК, исходная адгезия тромбоцитов не отличалась от таковых пациентов без антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 12,6 [9,9; 15,5] мВ и 13,3 [9,5; 17,3] мВ (p = 0,6) (рис. 4). У пациентов контрольной группы, которые принимали АСК, адгезия тромбоцитов после блокирования GPIb не отличалась от адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb у пациентов без антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 10,6 [3,5; 14,9] мВ и 9,6 [4,3; 14,5] мВ (p = 0,9) (рис 4).

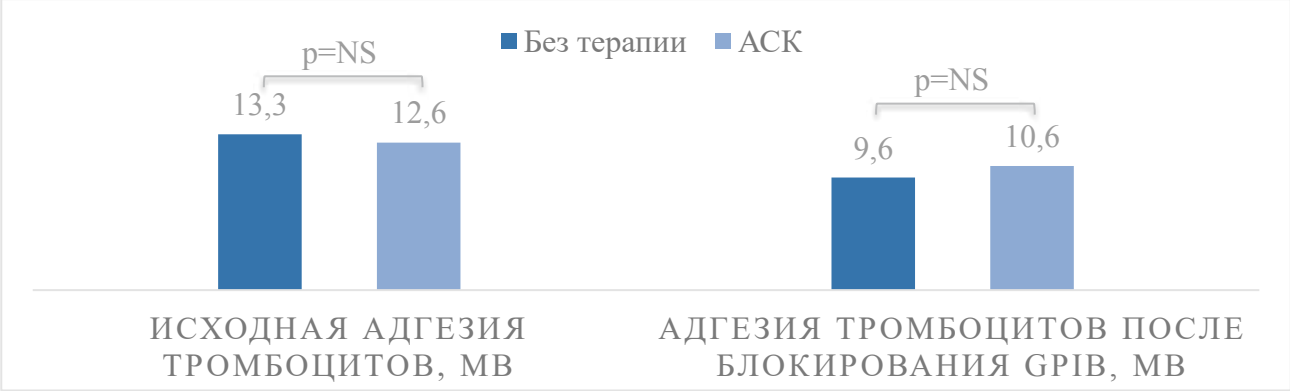


Рис. 4. Адгезия тромбоцитов до и после блокирования GPIb у пациентов контрольной группы в зависимости от приема ацетилсалициловой кислот

Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС не зависела от режима антиагрегантной терапии и составила 67,7 [47,9; 83,3] % у пациентов, принимавших АСК, 69,5 [60,7; 79,2] % у пациентов, принимавших клопидогрел и 77,9 [63,5; 85,2] % у пациентов, принимавших двойную антиагрегантную терапию (рис 5а). Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов контрольной группы, которые принимали монотерапию АСК, не отличалась от выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов, не принимавших антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 22,2 [-34,3; 39,4] % и 37,1 [-1,4; 59,1] % (рис 5б).

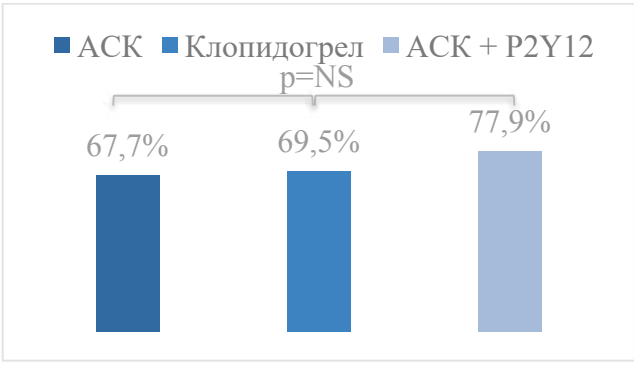


Рис. 5а. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС в зависимости от режима антиагрегантной терапии

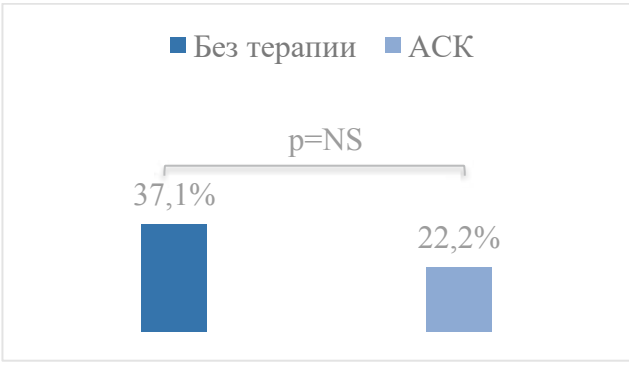


Рис. 5б. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов контрольной группы в зависимости от приема ацетилсалициловой кислоты

Сравнительный анализ факторов, связанных с рано возникшей ИБС. Согласно однофакторному логистическому регрессионному анализу, злостное курение, выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ ≥45%, мужской пол, СД, уровень ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин, курение, а также возраст являлись факторами, связанными с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет. Многофакторный логистический регрессионный анализ показал, что у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет выраженность изменения адгезии тромбоцитов ≥45% после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ вне зависимости от факторов риска связана с повышенной вероятностью выявления ИБС (ОШ 6,3; 95% ДИ 2,4-16,2; p <0,001). С повышенной вероятностью выявления ИБС независимо связаны злостное курение (ОШ 6,1; 95% ДИ 1,7-25,4; p = 0,01), мужской пол (ОШ 3,4; 95% ДИ 1,2-10; p = 0,02) и возраст (ОШ 1,1; 95% ДИ 1-1,14; p = 0,02).

Обсуждение

ФВ - один из компонентов системы гемостаза, играющий ключевую роль в адгезии тромбоцитов к субэндотелию при нарушении целостности эндотелиального слоя. Обнажение компонентов субэндотелиального внеклеточного матрикса инициирует прикрепление ФВ к обнажившемуся коллагену. Сайты связывания в доменах A1 ФВ начинают взаимодействовать с рецепторами GPIb тромбоцитов, вызывая их захват из кровотока и адгезию к стенке артерии [6]. Блокирование рецепторов GPIb будет нарушать это взаимодействие и, тем самым, подавлять адгезию. Мы предположили, что нарушение взаимодействия ФВ с рецепторами GPIb тромбоцитов с помощью мАт к ним, может отличаться у больных с ранним развитием ИБС и у пациентов без этого заболевания, что подтвердили результаты настоящего исследования. Циркуляция крови в проточной камере сопровождалась, наряду с другими процессами, взаимодействием ФВ с коллагеном на поверхности камеры, что приводило к адгезии к ней тромбоцитов и, как следствие этого, увеличению рассеивания направленного на поверхность камеры лазерного излучения. Добавление в циркулирующую в микрофлюидном устройстве кровь мАт к рецепторам GPIb тромбоцитов приводило к подавлению адгезии и уменьшению рассеивания лазерного излучения. Мы обнаружили значительное различие в выраженности ингибирования адгезии после добавления мАт к рецепторам GPIb тромбоцитов у больных с ранним развитием ИБС и у пациентов без этого заболевания. У больных с ранним развитием ИБС медиана снижения адгезии тромбоцитов после блокирования рецепторов GPIb составила 77%, в то время как, у пациентов без этого заболевания – 29,5% (p <0,0001).

Логистический регрессионный анализ показал, что с поправкой на традиционные факторы риска ИБС, снижение адгезии тромбоцитов ≥45% после блокирования рецепторов GPIb связано с повышенной вероятностью выявления ИБС.

В подавляющем большинстве исследований, в которых изучалось влияние ФВ на возникновение и течение ИБС, проводилось измерение его уровня в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа. Во многих исследованиях была обнаружена прямая связь между уровнем ФВ и возникновением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС. В том числе, в проспективное исследование ECAT вошли 3043 пациента со стенокардией. Продолжительность исследования равнялась 2 годам. Согласно полученным результатам, пациенты, у которых возник ИМ или внезапная сердечная смерть, исходно имели более высокое содержание в крови ФВ. В зависимости от уровня ФВ пациенты были разделены по квантилям. У пациентов верхнего квантиля риск возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий был в 1,85 раза выше, чем у пациентов нижнего квантиля [7]. Следует, однако отметить, что измерение уровня ФВ в плазме крови имеет значительные ограничения, так как не дает представления о том, каково соотношение функционально активных и неактивных форм ФВ. Активность ФВ оценивают с помощью ристоцетин-кофакторного теста, в котором определяют способность ФВ связываться с GPIb тромбоцитов под действием антибиотика ристоцетина [8]. Этот тест позволяет выявить тяжелую недостаточность функции ФВ. Однако в ристоцетин-кофакторном тесте взаимодействие GPIb тромбоцитов с ФВ происходит под действием химического агента, что не позволяет оценить физиологическую функцию ФВ. В процессе тромбообразования участвует много факторов, разработка новых методов диагностики по выявлению нарушений отдельных звеньев этой сложной цепи, в том числе направленных на оценку функциональной активности ФВ в условиях максимально приближенных к естественным, могут приводить к разработке новых лекарственных средств.

Заключение

Блокирование взаимодействия рецепторов GPIb с ФВ при повышенной скорости сдвига у пациентов с ранним развитием ИБС приводит, в сравнении с пациентами без ИБС, к большему снижению адгезии тромбоцитов. Это позволяет предположить, что чрезмерное взаимодействие ФВ с тромбоцитами может участвовать в патогенезе раннего развития ИБС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gulati R. Acute Myocardial Infarction in Young Individuals / Gulati R., Behfar A., Narula J. et al.// Mayo Clin Proc. – 2020. – №95. – P. 136-156.

2. Pendu R. P-selectin glycoprotein ligand 1 and beta2-integrins cooperate in the adhesion of leukocytes to von Willebrand factor / Pendu R., Terraube V., Christophe O. D. et al.// Blood. – 2006. – №108. – P. 3746-52.).

3. Hosokawa K. A novel automated microchip flow-chamber system to quantitatively evaluate thrombus formation and antithrombotic agents under blood flow conditions / Hosokawa K., Ohnishi T., Kondo T. et al.// J Thromb Haemost. – 2011. – №9. – P. 2029-37.;

4. Kageyama S. Effect of a humanized monoclonal antibody to von Willebrand factor in a canine model of coronary arterial thrombosis / Kageyama S., Matsushita J., Yamamoto H.// Eur J Pharmacol. – 2002. – №443. – P. 143-9.

5. Gabbasov Z. A. Kinetics of platelet adhesion to a fibrinogen-coated surface in whole blood under flow conditions

6. Стуклов Н. И. Физиология и патология гемостаза / Стуклов Н. И., Кобелевская Н. В., Поликарпова Т. С. и др.//. – 2016.)

7. Thompson S. G. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group / Thompson S. G., Kienast J., Pyke S. D. et al.// N Engl J Med. – 1995. – №332. – P. 635-41

8. Klinische Chemie und Hämatologie: 69 Tabellen;[Taschenlehrbuch]. / Dörner K.: Georg Thieme Verlag, 2009

ПРОТЕЗИРОВАНИЕ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА АУТОПЕРИКАРДОМ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШАБЛОНОВ: НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ И СРЕДНЕОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Р.Н. Комаров, М.И. Ткачёв, Р.М. Исаев, Н.С. Башмаков, В.А. Савина, И. Дхиф

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, Российская Федерация, 119991

Основные положения

• Продемонстрированы результаты протезирования аортального клапана аутоперикардом без использования шаблонов. Родоначальником неокуспидизации принято считать S. Ozaki, однако методы расчета неостворки из перикарда предложены задолго до него. Методика японского профессора заключается в использовании специальных шаблонов. В данной статье представлен математический расчет створки, выполненный хирургами Сеченовского Университета, позволяющий не только существенно упростить процедуру, но и выполнять ее в тех центрах, где шаблонов Ozaki нет.

Цель	Описана оригинальная методика полной реконструкции аортального клапана аутоперикардом. Расчет формы неостворок осуществлен на основании данных о диаметре фиброзного кольца, которые могут быть получены как во время, так и до операции, что позволяет сократить время вмешательства, искусственного кровообращения и ишемии миокарда, а в конечном итоге добиться снижения ишемии головного мозга и снизить вероятность поздних осложнений.
Материалы и методы	Проведено проспективное исследование 34 пациентов, оперированных по поводу порока аортального клапана в кардиохирургическом отделении Университетской клинической больницы № 1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в период с января 2020 г. по март 2023 г. Средний период наблюдения для всей когорты составил 14,1±7,7 мес. Средний возраст больных – 51±17 лет (19–78 лет). Гендерное распределение в общей группе: мужской пол – 50% (n = 17), женский – 50% (n = 17). Всем пациентам выполнено протезирование аортального клапана аутоперикардом без использования шаблонов (расчетным способом). 17 (50%) больным проведена изолированная коррекция порока аортального клапана, 11 (32,3%) – протезирование восходящей аорты, 5 (14,7%) – вмешательство на митральном клапане, в 3 (8,8%) случаях выполнено коронарное шунтирование. Стеноз аортального клапана отмечен у 11 (32,3%) пациентов, недостаточность – у 4 (11,7%), стеноз и недостаточность – у 19 (55,8%). Двустворчатый аортальный клапан выявлен у 18 (52,9%) больных. Все пациенты разделены на две группы: Komarov (изолированная коррекция порока аортального клапана) и Komarov Plus (коррекция порока аортального клапана с сопутствующей кардиальной патологией).
Результаты	Не зарегистрировано случаев конверсии в стандартное протезирование аортального клапана. Зафиксировано два случая госпитальной летальности; по данным патологоанатомического заключения, смерть в обоих случаях наступила из-за осложнений, спровоцированных двусторонней полисегментарной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2. Одному пациенту через 4 мес. после вмешательства потребовалась повторная операция вследствие развившегося эндокардита, возбудитель Streptococcus viridans. В среднеотдаленном периоде гемодинамические показатели, такие как пиковый градиент, средний градиент и пиковая скорость, составили 11,96±4,70, 5,88±2,07 мм рт. ст. и 168,19±30,56 см/с.

Заключение	Конечный вид протеза служит анатомическим аналогом нативного клапана и обеспечивает достоверное снижение пикового давления, отсутствие регургитации на клапане после операции и увеличение площади эффективного отверстия. Данный метод можно рассматривать как безопасную альтернативу процедуре Ozaki, при которой створки выкраивают с помощью специальных шаблонов.
Ключевые слова	Аортальный клапан • Глутаральдегид • Реконструкция аутоперикардом • Неокуспидизация • Неостворки • Перикард

Поступила в редакцию: *15.04.2023;* ***поступила после доработки:*** *13.06.2023;* ***принята к печати:*** *10.07.2023*

AORTIC VALVE REPLACEMENT USING AUTOLOGOUS PERICARDIUM WITHOUT TEMPLATES: SHORT AND MID-TERM OUTCOMES

R.N. Komarov, M.I. Tkachev, Isaev R.M., N.S. Bashmakov, V.A. Savina, I. Dhif

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8-2, Trubetskaya St., Moscow, Russian Federation, 119991

Highlights

• We have described the outcomes of aortic valve replacement using autologous pericardium without special templates. Although S. Ozaki is considered by many to be the founder of neocuspidization technique, the methods for sizing of the neocusps were proposed long before him. The method of the Japanese professor involves using special templates. This article presents a mathematical formula to calculate neocusps` size, which significantly simplifies the procedure, and makes it possible to perform it in centers that do not possess Ozaki templates.

Aim	To describe an original technique of aortic valve replacement using autologous pericardium without templates. The calculation of the neocusps` size is based on the diameter of aortic annulus, which can be estimated both intraoperatively and preoperatively, helps to reduce the duration of surgery, CPB time and myocardial ischemia, and lower the rates of late complications.
Methods	The prospective study included 34 patients with aortic valve disease admitted to the Cardiac Surgical Department of the University Clinical Hospital No.1 of the First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Ministry of Health of Russia in the period from January 2020 to March 2023. The mean age of the patients was 51±17 years (from 19 to 78 years). Gender distribution in the total group was as follows: male 50% (n = 17), female 50% (n = 17). All patients underwent aortic valve replacement using autologous pericardium without templates (by calculating the neocusps` size). Isolated aortic valve replacement was performed in 17 patients (50%), ascending aorta replacement in 11 patients (32.3%), mitral valve intervention in 5 (14.7%), coronary artery bypass grafting in 3 (8.8%) cases. 11 patients (32.3%) had aortic valve stenosis, 4 patients (11.7%) had insufficiency, and 19 patients (55.8%) had both stenosis and insufficiency. Bicuspid aortic valve was detected in 18 patients (52.9%). All patients were divided into two groups: Komarov (aortic valve replacement only) and Komarov Plus (aortic valve replacement and treatment for concomitant cardiac pathology).
Results	There were no cases of conversion to traditional aortic valve replacement using prosthetic valves. There were 2 cases of in-hospital mortality; according to medical records, death in both cases was due to complications provoked by double pneumonia caused by SARS-CoV-2. 1 patient required reoperation 4 months after the intervention due endocarditis caused by Streptococcus viridans. In the midterm follow-up period, hemodynamic parameters such as peak gradient, mean gradient, and peak velocity were 11.96±4.70 mm Hg, 5.88±2.07 mm Hg, 168.19±30.56 cm/s.

Conclusion	The obtained valve prosthesis is anatomically analogous to the native valve and provides reliable peak pressure reduction, no postoperative regurgitation, and increased effective orifice area. The proposed method is safe and can serve as an alternative to the Ozaki procedure, in which the neocusps are outlined using special templates.
Keywords	Aortic valve • Glutaraldehyde • Autologous pericardial aortic valve reconstruction • Neocuspidization • Neocusp • Pericardium

Received: *15.04.2023;* ***received in revised form:*** *13.06.2023;* ***accepted:*** *10.07.2023*

Список сокращений

ЭхоКГ – эхокардиография

Введение

«Золотым стандартом» коррекции порока аортального клапана является имплантация механического или биологического протеза [1]. К искусственным клапанам предъявляют ряд условий, которые, к сожалению, не все выполнимы, если проводить вмешательство общепринятыми методиками. Так, при использовании механического протеза пациент вынужден придерживаться особого ритма жизни – с постоянным приемом антикоагулянтов (варфарина) и регулярным контролем международного нормализованного отношения. Пренебрежительное отношение к данным правилам влечет за собой кровотечение (что чаще) либо чревато тромботическими осложнениями при недостаточной дозе. Молодые женщины с механическими протезами сталкиваются с рядом трудностей при беременности из-за тератогенного действия варфарина, а у диализных больных применение данного препарата – вопрос крайне сложный и связан с повышенным риском побочных эффектов. Также механические клапаны невозможно имплантировать детям и людям с узким фиброзным кольцом. Однако, несмотря на минусы, эти протезы имеют более продолжительный срок службы по сравнению с биологическими.

Биологические клапаны компенсируют ряд проблем механических протезов, но и у них есть недостатки. Так, клапаны, выполненные из бычьего или свиного перикарда, подвержены быстрой дегенерации и кальцификации, что в долгосрочной перспективе требует репротезирования. При этом пациенты с биологическими клапанами реже сталкиваются с проблемой несоответствия «протез – пациент» (то есть неадекватного соотношения площади эффективного отверстия с площадью поверхности тела). С целью объединить все преимущества и избавиться от недостатков еще 50 лет назад предложен альтернативный метод коррекции порока аортального клапана – с помощью аутоперикарда [2]. Однако ближайшие результаты показали высокую степень дегенерации и кальцификации створок. Представлен способ уменьшения данных негативных явлений с помощью обработки аутоперикарда глутаровым альдегидом в концентрации 0,6%, что, как было доказано, уменьшает вероятность ретракции и рубцевания створок. В опытах in vitro неоклапан отработал 800 млн циклов в пульс-дубликаторе, а в экспериментах на овцах за 6 мес. наблюдения клапан не потерял в прочности и не был деформирован [3]. На сегодняшний день существует несколько десятков способов формирования неостворок из аутоперикарда, часть из которых достаточно субъективны и операторозависимы, что может влиять на длительность службы неоклапана [4]. Несмотря на значительное количество методик, общепризнанным на данный момент остается способ неокуспидизации с использованием шаблонов, автором которого является S. Ozaki [5]. Так, в 2007 г. японский хирург предложил использовать специальные шаблоны, форма которых зависит от межкомиссурального расстояния. После выкраивания неостворки имплантируют в позицию удаленных. Необходимо отметить, что данная методика предусматривает асимметрию, что на первый взгляд кажется логичным, в долгосрочной же перспективе показывает неэффективность с высоким уровнем регургитации [6] и дисфункции клапана [7]. Также минусом данной методики выступает необходимость дорогостоящих шаблонов, что непроизвольно наталкивает на мысль о целесообразности данного метода, несмотря на его популярность.

Существует несколько десятков модификаций операции Ozaki. Авторские методики различаются видами измерителей и шаблонов. Как следует из вышесказанного, преимущественно все методики нуждаются в дополнительном инструментарии, который, вопреки распространенному мнению, усложняет процедуру реконструкции. К недостаткам указанных способов можно также отнести длительное время ишемии миокарда и искусственного кровообращения, так как измерение межкомиссуральных расстояний и формирование неостворок происходит после аортотомии, что в некоторой сте-

пени снижает эффективность лечения. Мы предлагаем новую методику реконструкции аортального клапана аутоперикардом, опираясь на данные о диаметре фиброзного кольца, которые могут быть получены как во время, так и до операции.

Материалы и методы

В проспективное исследование включены 34 пациента с пороком аортального клапана, требующим хирургической коррекции. Критериями невключения были пациенты, подвергшиеся экстренной операции; больные с предыдущими вмешательствами на сердце, а также лица моложе 18 лет. Все хирургические вмешательства выполнены в отделении кардиохирургии клиники сердечно-сосудистой хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова с января 2020 г. по март 2023 г. Все пациенты разделены на две группы с учетом объема хирургического лечения. В группу Komarov Only входили пациенты, которым проведена изолированная коррекция порока аортального клапана (17 (50%)); в группу Komarov Plus – больные, которым помимо коррекции порока аортального клапана проведено сочетанное вмешательство на любом другом клапане, коронарное шунтирование или вмешательство на восходящей аорте (11 (32,3%) – протезирование восходящей аорты, 5 (14,7%) – вмешательство на митральном клапане, 3 (8,8%) – коронарное шунтирование). Каждому пациенту выполнена комплексная диагностика, включающая эхокардиографию (ЭхоКГ), анализ электрокардиограммы, общий анализ крови и биохимические исследования.

Трансторакальная ЭхоКГ проведена на аппарате Philips CX50 (Philips, Нидерланды) в соответствии со стандартным протоколом исследования [8]. Для оценки аортального клапана применяли парастернальный доступ по короткой и длинной осям. Оценены как анатомия, так и скорость потока на аортальном клапане, градиенты, размер фиброзного кольца и эффективная площадь отверстия. Также определены размерные и объемные величины левого желудочка, фракция выброса, систолическое давление в легочной артерии, толщина задней стенки левого желудочка и межжелудочковой перегородки.

Метод расчета створки

В норме аортальный клапан является трехстворчатым, створки имеют форму полулуния и содержат следующие описательные величины: длину свободного края (L1), длину прикрепления створки к фиброзному кольцу (L2) и высоту створки (H). Также мы формируем «крылья» и «крышу» створки для обеспечения лучшей коаптации (рис. 1).

Исходя из результатов морфометрического исследования трехстворчатых аортальных клапанов у людей, которые умерли не от сердечно-сосудистой патологии [9], выведены ключевые универсальные уравнения для выявления размеров створок при известном межкомиссуральном расстоянии: L1 = 1,04 × IC + 6,17; L2 = 1,21 × IC + 18,9; H = 0,33 × IC + 10,05, где IC – межкомиссуральное расстояние. В данной работа не обнаружено достоверно значимой разницы в размере створок. Представленная формула, несмотря на точность, трудна для понимания, поэтому на основании данных, полученных в ходе исследования, выведена простая формула, которая может быть применена хирургом любого уровня для проектировки неостворки без особых усилий.

Предложено формировать все неостворки одинакового размера по следующей упрощенной формуле: L1 = ФК АК + 10 мм (рис. 2, *A, B*), H = ФК АК (рис. 2, *C*) (высота проведена от середины отрезка L1), где ФК АК – диаметр фиброзного кольца аортального клапана. Параметр L2 же отражает длину прикрепления створки, по структуре является широкой параболой, которая соединяет края отрезков L1 и H (рис. 2, *D*). Следующим шагом необходимо сформировать добавочные «крылья» по обе стороны неостворки: в обе стороны от L1 проводят отрезок 3 мм, от места соединения L1 и L2 по ходу L2 – отрезок длиной 1/3 диаметра фиброзного кольца аортального клапана (около 7–8 мм); вновь образованные отрезки соединяют гипотенузой, формируя треугольник с прямым углом (рис. 2, *E*). От середины отрезка L1 в противоположную сторону от H перпендикулярно строят отрезок длиной 4 мм, что после соединения прямыми линиями с концами отрезка L1 (точнее с точками его продолжения) позволяет сформировать «крышу» неостворки, что положительно влияет на коаптацию всех элементов неоклапана и тем самым снижает вероятность регургитации (рис. 2, *F*). Данная формула, несмотря на обширное описание, проще для понимания и в применении, так как уже включает припуск на шов 3 мм. Подробно техника фиксации изложена в соответствующей статье [10].

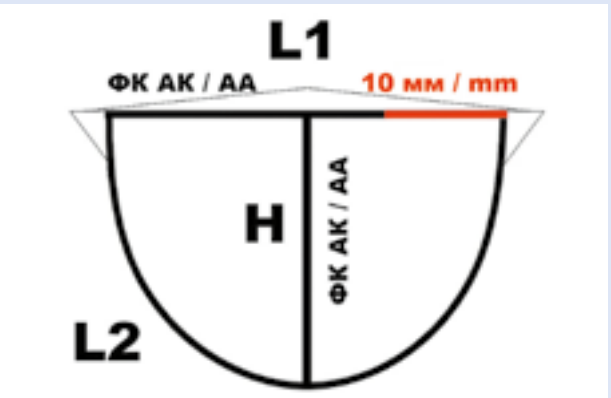


Рисунок 1. Описание размерных величин неостворки из аутоперикарда
Примечание: *ФК АК – фиброзное кольцо аортального клапана.*
Figure 1. Size of the neocusps made with autologous pericardium
Note: *AA – aortic annulus.*

Статистический анализ

Статистический анализ данных проведен с использованием программы Statistica 8.0. Результаты представлены в виде таблиц и графиков с указанием средних значений (M) и стандартных отклонений (SD). Все параметры проверены на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для нахождения различий между группами пациентов для нормально распределенных числовых показателей использовали критерий ANOVA (для нескольких групп), затем применяли попарное сравнение групп с помощью t-критерия Стьюдента для двух независимых выборок с поправкой Бонферрони. Для сравнения дихотомических показателей между независимыми выборками и установления достоверных различий между ними использовали Хи-квадрат с поправкой Йейтса на непрерывность, при попарном сравнении групп – точный двусторонний критерий Фишера для небольших выборок. При невозможности применения критерия Хи-квадрат (все ожидаемые числа >5) использовали Z-критерий (аналог t-критерия Стьюдента для долей), а для 0 и 100% – с поправкой для концевых точек. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Выживаемость, свободу от реопераций и значимой аортальной недостаточности в среднеотдаленный период оценивали методом Каплана – Майера. Сравнение выживаемости в двух группах – по критерию Кокса – Ментела.

Результаты

Как упомянуто ранее, для удобства мы разделили пациентов на две группы на основании выполненного объема вмешательств. В табл. 1 более подробно отражены антропометрические характеристики исследуемой когорты пациентов в зависимости от группы. Средний возраст больных составил 51,3±17,5 года (от 19 до 78 лет). Гендерное распределение в общей группе: 17 (50%) мужчин и 17 (50%) женщин. Усредненный индекс массы тела пациентов – 25,7±6,3 кг/м^2, площадь поверхности тела по формуле Дюбуа и Дюбуа – 1,8±0,2 м^2. Состояние 18 (54,7%) пациентов соответствовало I–II функциональному классу по NYHA, 14 (43,75%) – III функциональному классу по NYHA. Пациентов с декомпенсацией ХСН (IV функциональный класс по NYHA) не выявлено.

В исследуемой когорте 11 человек имели только аортальный стеноз, 4 – аортальную недостаточность, у 19 пациентов выявлены аортальные стеноз и недостаточность (табл. 2).

Всем пациентам до и после операции выполнена

Таблица 1. Антропометрические характеристики пациентов в исследуемой когорте
Table 1. Anthropometric characteristics of patients in the study cohort

Параметр / Parameter		Komarov Only, n = 17	Komarov Plus, n = 17
Возраст, лет / Age, years, M±SD, (min–max)		48,18±18,37 (20–72)	54,35±16,66 (19–78)
Пол / Gender, n (%)	Мужской / Male	6 (35,3)	11 (64,7)
	Женский / Female	11 (64,7)	6 (35,3)
ИМТ, кг/м^2 / BMI, kg/m^2, M±SD, (min–max)		25,94±5,96 (20–41,4)	25,44±6,76 (18,9–34,5)
ППТ, м^2 / BSA, m^2, M±SD, (min–max)		1,77±0,17 (1,5–2,1)	1,90±0,22 (1,6–2,4)
NYHA, степень / grade, M±SD		1,65±1,06	2,29±0,85

Примечание: *ИМТ – индекс массы тела; ППТ – площадь поверхности тела; NYHA – Нью-Йоркская ассоциация кардиологов.*
Note: *BMI – body mass index; BSA – body surface area; NYHA – New-York Heart Association.*

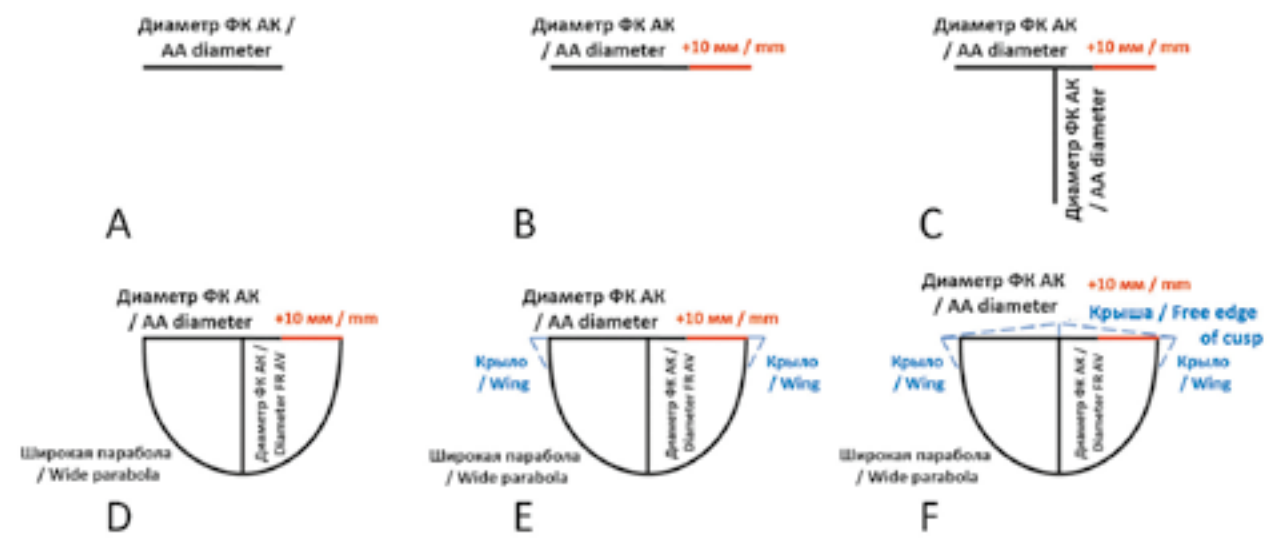


Рисунок 2. Методика расчета неостворки из аутологичного перикарда на основании данных о диаметре фиброзного кольца аортального клапана
Примечание: *ФК АК – фиброзное кольцо аортального клапана.*
Figure 2. Calculation of the size of autologous pericardial neocusps using aortic annulus diameter
Note: *AA – aortic annulus.*

трансторакальная ЭхоКГ на аппарате Philips CX50 (Philips, Нидерланды) в соответствии со стандартным протоколом исследования. В исследуемой популяции до операции пиковый градиент составил 75,9±30,6 мм рт. ст., средний – 43,8±19,2 мм рт. ст., пиковая скорость на клапане – 420,6±90,2 см/с. 18 (52,9%) больных имели двустворчатый аортальный клапан (табл. 3).

Таблица 2. Характер поражения аортального клапана в исследуемой когорте пациентов
Table 2. Characteristics of aortic valve diseases in the study cohort

Параметр / Parameter	Группа Komarov / Komarov group	
	Komarov Only, n = 17	Komarov Plus, n = 17
АС более 2 ст. / AS higher than 2 grade, n (%)	7 (41,2)	4 (23,5)
АН более 2 ст. / AR higher than 2 grade, n (%)	1 (5,8)	3 (17,6)
АС + АН более 2 ст. / AS+AR higher than 2 grade, n (%)	9 (52,9)	10 (58,8)

Примечание: *АН – аортальная недостаточность; АС – аортальный стеноз.*
Note: *AR – aortic regurgitation; AS – aortic stenosis.*

Время искусственного кровообращения и ишемии миокарда составило 146,6±37,8 и 99,0±26,9 мин соответственно. Средняя кровопотеря – 723,5±179,3 мл. Не зафиксировано конверсий в имплантацию стандартного протеза. Среднее время пребывания в стационаре – 14±7 дней. Средний период наблюдения – 12±2 мес. Зарегистрировано два случая госпитальной летальности; по данным патологоанатомического заключения, смерть в обоих случаях наступила из-за осложнений, спровоцированных двусторонней полисегментарной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2. Через 7 мес. выявлен один летальный исход, причиной которого стала острая сердечная недостаточность. В последний день пребывания в стационаре всем прооперированным пациентам выполнена трансторакальная ЭхоКГ. Следует отметить, что интраоперационно при контроле клапана посредствам чреспищеводной ЭхоКГ специалист по функциональной диагностике либо не определял регургитацию на клапане, либо определял незначительную (0,5 степени). Также больные проходили контрольное исследование через 3, 6 мес. и далее ежегодно. В среднеотдаленном периоде гемодинамические

Таблица 3. Эхокардиографические показатели до операции в исследуемой когорте пациентов
Table 3. Preoperative echocardiographic parameters in the study cohort

Параметр / Parameter	Komarov Only, n = 17	Komarov Plus, n = 17
Двустворчатый АК / Bicuspid AV, n (%)	9 (52,9)	9 (52,9)
ФВ ЛЖ / LVEF, %, M±SD,	63,35±4,99	58,18±9,66
КДО, мл / EDV, mL, M±SD	93,00±43,03	119,71±49,97
КСО, мл / ESV, mL, M±SD	34,12±17,29	51,12±23,75
КДР, см / EDD, cm, M±SD	4,72±1,06	4,94±0,71
КСР, см / ESD, cm, M±SD	3,51±0,51	3,49±0,55
УО, мл / Stroke volume, mL, M±SD	58,88±26,80	68,12±29,57
Толщина МЖП, см / IVS thickness, cm, M±SD	1,22±0,22	1,39±0,25
Толщина ЗСЛЖ, см / LVPW thickness, cm, M±SD	0,95±0,22	1,06±0,13
ММЛЖ, г / LVM, g, M±SD	215,49±100,29	284,55±82,53
ММЛЖ/ППТ, г/м^2 / LVM/BSA, g/m^2, M±SD	120,93±54,51	149,23±36,22
Левое предсердие, мл / Left atrium, mL, M±SD	45,35±16,84	70,71±26,53
Правое предсердие, мл / Right atrium, mL, M±SD	39,18±15,36	55,65±23,32
Диастолическая дисфункция / Diastolic dysfunction, n (%)	6 (35,3%)	9 (52,9%)
Диаметр ФК АК, см / Aortic annulus diameter, cm, M±SD	2,18±0,29	2,26±0,27
Площадь АК, см^2 / AV area, cm^2, M±SD	0,84±0,24	1,09±0,59
Индексированная площадь АК, см^2\м^2 / Indexed AV area, cm^2/m^2, M±SD	0,53±0,27	0,53±0,24
Пиковый градиент, мм рт. ст. / Peak gradient, mm Hg, M±SD	79,88±27,62	71,94±33,69
Средний градиент, мм рт. ст. / Mean gradient, mm Hg, M±SD	46,53±17,46	41,06±21,03
Пиковая скорость, см/с / Peak velocity, cm/s, M±SD	415,76±95,19	425,35±87,60

Примечание: *АК – аортальный клапан; ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка; КДО – конечный диастолический объем; КДР – конечный диастолический диаметр; КСО – конечный систолический объем; КСР – конечный систолический диаметр; МЖП – межжелудочковая перегородка; ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка; ППТ – площадь поверхности тела; УО – ударный объем; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ФК – фиброзное кольцо.*
Note: *AV – aortic valve; BSA – body surface area; EDD – end-diastolic diameter; EDV – end-diastolic volume; ESD – end-systolic diameter; ESV – end-systolic volume; IVS – interventricular septum; LVEF – left ventricular ejection fraction; LVM – left ventricular mass; LVPW – left ventricular posterior wall.*

показатели, такие как пиковый, средний градиент и пиковая скорость, составили 11,96±4,70, 5,88±2,07 мм рт. ст. и 168,19±30,56 см/с (рис. 3, табл. 4).

Обсуждение

Создание идеального протеза клапана требует учета множества факторов. Среди них особое значение имеют отсутствие необходимости приема антикоагулянтов, высокая прочность и долговечность протеза, а также максимальное соответствие функциональности нативного клапана, что не создает препятствий для кровотока. Еще 50 лет назад предложен альтернативный метод коррекции порока аортального клапана, который объединил многие преимущества и был лишен недостатков применяемых в то время протезов: протезирование аутоперикардом [2]. Несмотря на достаточную в последнее время популярность этой технологии и наличие нескольких вариантов ее исполнения, общепринятым остается метод S. Ozaki, заключающийся в выкраивании створок по специальным шаблонам, размер которых зависит от длины межкомиссурального расстояния [5]. Стоит отметить, что данная методика предусматривает асимметрию, что на первый взгляд кажется логичным, при этом в долгосрочной перспективе показывает неэффективность вследствие высокого уровня регургитации [6, 10] и дисфункции [12] клапана. Отсутствие универсальности методики неокуспидизации и знание гемодинамики структур корня аорты способствовало разработке инновационного отечественного способа расчета створок из аутоперикарда, который не требует дорогостоящих шаблонов, а по гемодинамической эффективности не уступает общепринятой методике.

Многие авторы подтверждают, что протезирование аортального клапана аутоперикардом (по методике Ozaki, так как она является наиболее популярной), как правило, точно повторяет анатомию нормального аортального клапана и поэтому обеспечивает большую эффективную площадь отверстия и низкие послеоперационные градиенты [13–22]. S. Ozaki и соавт. сообщают о среднем пиковом градиенте 15,2±6,3 мм рт. ст. через 8 лет после операции [14]. M. Krane и коллеги отмечают средний градиент давления 8,9±3,8 мм рт. ст. и эффективную площадь отверстия 2,1±0,7 см^2 при выписке, которые оставались стабильными в течение первого послеоперационного года [15]. По результатам метаанализа U. Benedetto и соавт., пиковый и средний трансвальвулярный градиент составил 16,0±3,7 и 9,0±2,2 мм рт. ст. через 12,5 мес. [16]. Y. Iida и соавт. регистрируют средний

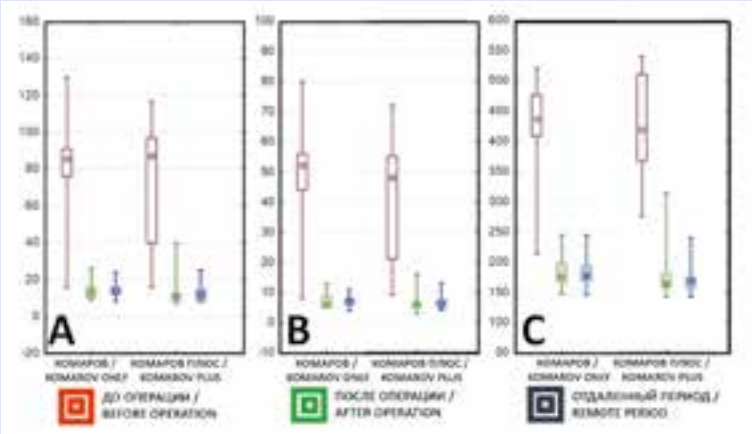


Рисунок 3. Гемодинамические параметры до и после операции (перед выпиской из стационара и в отдаленном периоде)
Примечание: *A – пиковый градиент (мм рт. ст.); B – средний градиент (мм рт. ст.); C – пиковая скорость (м/с).*
Figure 3. Hemodynamic parameters before and after surgery (before discharge and in the long-term period)
Note: *A – peak gradient (mm Hg); B – average gradient (mm Hg); C – peak velocity (m/s).*

Таблица 4. Эхокардиографические показатели после операции (до выписки и в отдаленном периоде) в исследуемой когорте пациентов
Table 4. Postoperative echocardiographic parameters before discharge and in the mid-term period in the study cohort

Параметр / Parameter	До операции / Before discharge		Отдаленный период / Mid-term period	
	Komarov Only, n = 15	Komarov Plus, n = 17	Komarov Only, n = 14	Komarov Plus, n = 17
Пиковый градиент, мм рт. ст. / Peak gradient, mmHg, M±SD	14,69±5,56	13,88±8,06	14,1±4,3	9,5±4,1
Средний градиент, мм рт. ст. / Mean gradient, mmHg, M±SD	7,06±2,72	6,65±3,00	6,8±1,7	4,8±2,0
Пиковая скорость, см/с / Peak velocity, cm/s, M±SD	185,25±28,17	181,18±43,54	182,7±25,7	151,3±27,5
Недостаточность АК 0–0,5 ст. / AV regurgitation 0–0,5 grade, n (%)	13 (86,6)	14 (82,3)	13 (92,8)	15 (88,2)
Недостаточность АК 1–1,5 ст. / AV regurgitation 1–1,5 grade, n (%)	2 (13,4)	3 (17,7)	1 (7,2)	2 (11,8)
Недостаточность АК 2 ст. и более / AV regurgitation 2 grade and more, n (%)	0	0	0	0
ЭПО АК, см^2 / EOA AV, cm^2, M±SD	–		2,43±0,3	2,57±0,2
Индексированная ЭПО, см^2/м^2 / Indexed EOA, cm^2/m^2, M±SD	–		1,39±0,1	1,36±0,1

Примечание: *АК – аортальный клапан; ЭПО – эффективная площадь отверстия.*
Note: *AV – aortic valve; EOA – effective orifice area.*

пиковый градиент давления 22,0±10,7 мм рт. ст. через неделю и 19,2±9,7 мм рт. ст. через 20 мес. после процедуры [19]. В метаанализе, включавшем опыт лечения 1 891 пациента, пиковый градиент составил 15,7±7,4 мм рт. ст. в течение периода наблюдения 38,1±23,8 мес. [23]. Согласно результатам применения нашей методики, в среднеотдаленном периоде гемодинамические показатели, такие как пиковый градиент, средний градиент и пиковая скорость, составили 11,96±4,70, 5,88±2,07 мм рт. ст. и 168,19±30,56 см/с, что не отличалось от непосредственных результатов после операции. Эффективная площадь отверстия и индексированная эффективная площадь отверстия зарегистрированы на уровне 2,54±0,26 $см^2$ и 1,39±0,1 $см^2/м^2$, что сопоставимо с таковыми при методике Ozaki.

Несомненно, продолжительность имплантации неостворок выше, чем протеза [24]. Однако, по данным метаанализа, который объединил 22 исследования и 1 891 пациента, средняя продолжительность зажима на аорте (время ишемии миокарда) и время искусственного кровообращения составили 106,8±24,8 и 135,2±35,1 мин соответственно [23], что сопоставимо с нашими данными – 99,0±26,9 и 146,6±37,8 мин для зажима на аорте и искусственного кровообращения соответственно – и не отличается от общепринятой методики.

S. Ozaki и соавт. сообщают о свободе от смерти, кумулятивной частоте повторных операций и рецидивов аортальной регургитации 2-й степени и более после среднего периода наблюдения 53,7±28,2 мес. в 85,9, 4,2 и 7,3% случаев соответственно. В представленной работе не зафиксировано случаев аортальной регургитации и повторных операций по какой-либо причине за период 12,0±2,0 мес., однако, несмотря на короткий период наблюдения, послеоперационные результаты не отличаются от таковых при методике Ozaki.

Таким образом, непосредственные и среднеотдаленные результаты протезирования аортального клапана аутоперикардом без использования шаблонов и по методике Ozaki сопоставимы по гемодинамическим параметрам и риску повторной регургитации, что позволяет выбирать первую методику в качестве альтернативы. Кроме того, результаты протезирования аутоперикардом сопоставимы с показателями нативного клапана, что свидетельствует о большей анатомичности данного метода по сравнению со стандартным протезированием. При этом использование аутоперикарда может быть более безопасным и экономически выгодным. Интраоперационный контроль, в частности с помощью чреспищеводной ЭхоКГ, обязателен при подобных вмешательства, так как позволяет непосредственно на операционном столе оценить эффективность процедуры и функциональную работу клапана и в случае неудовлетворительного результата принять решение о пластике неоклапана либо конверсии в стандартное протезирование. Сам по себе метод неокуспидизации обеспечивает относительно высокую устойчивость к возбудителям инфекционного эндокардита, поэтому может быть рассмотрен в качестве лечения у данной группы больных. Также следует рассмотреть вариант неокуспидизации у пациентов с системными воспалительными заболеваниями, когда иные методы коррекции недоступны или нежелательны. Неокуспидизация аортального клапана аутоперикардом позволяет добиться оптимальной эффективной площади отверстия, что совместно с низкими градиентами способствует достоверно значимому обратному ремоделированию миокарда, что в свою очередь не только улучшает работу сердца, но и снижает количество осложнений.

Заключение

Использование аутоперикарда в качестве материала для протезирования аортального клапана без применения шаблонов позволяет достичь более высокой степени индивидуализации операции: учитывать особенности каждого конкретного пациента. Ограничением данного исследования является короткий срок наблюдения (2 года), поэтому в работе оценены только ранние и среднеотдаленные результаты. По мере накопления опыта подобных вмешательств необходим анализ отдаленных исходов.

Конфликт интересов

Р.Н. Комаров заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.И. Ткачёв заявляет об отсутствии конфликта интересов. Р.М. Исаев заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.С. Башмаков заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Савина заявляет об отсутствии конфликта интересов. И. Дхиф заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Информация об авторах

Комаров Роман Николаевич, доктор медицинских наук, профессор заведующий кафедрой сердечно-сосудистой хирургии института профессионального образования, директор клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет

Author Information Form

Komarov Roman N., PhD, Professor, Head of the Department of Cardiovascular Surgery of the Institute of Professional Education, Director of the Aortic and Cardiovascular Surgery Clinic, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3904-6415

имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3904-6415

Ткачёв Максим Игоревич, аспирант кафедры сердечно-сосудистой хирургии института профессионального образования федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2252-7773

Tkachev Maxim I., Postgraduate Student, Department of Cardiovascular Surgery, Institute of Professional Education, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2252-7773

Исаев Руслан Магомедович, ассистент кафедры госпитальной хирургии № 1 федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5405-3325

Isaev Ruslan M., Assistant at the Department of Advanced Surgery No. 1, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5405-3325

Башмаков Никита Сергеевич, аспирант кафедры сердечно-сосудистой хирургии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2930-5070

Bashmakov Nikita S., Postgraduate Student, Department of Cardiovascular Surgery, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2930-5070

Савина Виктория Александровна, студент 5-го курса федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7711-1994

Savina Victoria A., 5th year Student, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7711-1994

Дхиф Инес, аспирант кафедры кардиологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0383-5471

Dhif Ines, Postgraduate Student, Department of Cardiology, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0383-5471

Вклад авторов в статью

КРН – вклад в концепцию и дизайн исследования, написание статьи, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ТМИ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и анализ данных исследования, написание статьи, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ИРМ – получение и анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

БНС – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СВА – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ДИ – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

KRN – contribution to the concept and design of the study, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

TMI – contribution to the concept and design of the study, data collection and analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

IRM – data collection and analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

BNS – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SVA – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

DI – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Otto C.M., Nishimura R.A., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P. 3rd, Gentile F., Jneid H., Krieger E.V., Mack M., McLeod C., O'Gara P.T., Rigolin V.H., Sundt T.M. 3rd, Thompson A., Toly C. 2020 ACC/AHA Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. Circulation. 2021;143(5). doi:10.1161/CIR.0000000000000932

2. Ross D.N.. Surgical reconstruction of the aortic valve. Lancet. 1963;1(7281):571-4. doi: 10.1016/s0140-6736(63)92687-4

3. Love C.S., Love J.W. The Autogenous Tissue Heart Valve: Current Status. J Cardiac Surgery. 1991;6(4):499-507. doi:10.1111/j.1540-8191.1991.tb00351.x

4. Subramanian S., Tikhomirov V., Bharati S., ElZein C., Roberson D., Ilbawi M.N. Relationship of Normal Aortic Valve Cusp Dimensions: A Tool to Optimize Cusp Reconstruction Valvuloplasty. Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2016;28(2):521-527. doi:10.1053/j.semtcvs.2015.08.005

5. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Nozawa Y., Takatoh M., Hagiwara S. A total of 404 cases of aortic valve reconstruction with glutaraldehyde-treated autologous pericardium. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2014;147(1):301-306. doi:10.1016/j.jtcvs.2012.11.012

6. Park T., Kim S., Cho Y., Park K., Park J.S., Kim M.H, Kim Y.D. Asymmetric aortic valve is related to development of eccentric aortic regurgitation in patients with tricuspid aortic valve. Echocardiography. 2019;36(6):1035-1040. doi:10.1111/echo.14374

7. Joseph L., Krishnaswamy A., Tuzcu E.M., Sonny A., Ozkan A., Svensson L.G., Griffin B.P., Thomas J., Kapadia S.R. Relation of cuspal asymmetry to development of aortic stenosis in adults with tricuspid aortic valves. J Heart Valve Dis. 2014;23(4):395-405

8. Джиоева О. Н., Максимова О. А., Рогожкина Е. А., Драпкина О. М. Особенности протокола трансторакального эхокардиографического исследования у пациентов с ожирением. Российский кардиологический журнал. 2022;27(12):5243. doi:10.15829/1560-4071-2022-5243.

9. Комаров Р.Н., Катков А.И., Одинокова С.Н. Современные анатомические представления о строении корня аорты с точки зрения практикующего хирурга. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2019;12(5):433-440 doi:10.17116/kardio201912051433

10. Комаров Р.Н., Яснопольская Н.В., Чернявский С.В., Катков А.И. Протезирование аортального клапана аутоперикардом по методике Ozaki. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2017;10(5):72 73. doi:10.17116/kardio201710572-73

11. Sarrafzadeh-Ghadimi N., Ghalichi F., Niroomand-Oscuii H., Fatouraee N. Design of an aortic polymeric valve with asymmetric leaflets and evaluation of its performance by finite element method. Computers in Biology and Medicine. 2022;145:105440. doi:10.1016/j.compbiomed.2022.105440

12. Joseph L, Krishnaswamy A., Tuzcu E.M., Sonny A., Ozkan A., Svensson L.G., Griffin B.P., Thomas J., Kapadia S.R. Relation of cuspal asymmetry to development of aortic stenosis in adults with tricuspid aortic valves. J Heart Valve Dis. 2014;23(4):395-405.

13. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Nozawa Y., Matsuyama T., Takatoh M., Hagiwara S. Aortic valve reconstruction using self-developed aortic valve plasty system in aortic valve disease. Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery. 2011;12(4):550-553. doi:10.1510/icvts.2010.253682

14. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Takatoh M., Kiyohara N. Midterm outcomes after aortic valve neocuspidization with glutaraldehyde-treated autologous pericardium. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2018;155(6):2379-2387. doi:10.1016/j.jtcvs.2018.01.087

15. Krane M., Boehm J., Prinzing A., Ziegelmueller J., Holfeld J., Lange R. Excellent Hemodynamic Performance After Aortic Valve Neocuspidization Using Autologous Pericardium. The Annals of Thoracic Surgery. 2021;111(1):126-133. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.04.108

16. Benedetto U., Sinha S., Dimagli A., Dixon L., Stoica S., Cocomello L., Quarto C., Angelini G.D., Dandekar U., Caputo M. Aortic valve neocuspidization with autologous pericardium in adult patients: UK experience and meta-analytic comparison with other aortic valve substitutes. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2021;60(1):34-46. doi:10.1093/ejcts/ezaa472

17. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Takatoh M., Hagiwara S., Kiyohara N. Aortic Valve Reconstruction Using Autologous Pericardium for Aortic Stenosis. Circ J. 2015;79(7):1504-1510. doi:10.1253/circj.CJ-14-1092

18. Reuthebuch O., Koechlin L., Schurr U., Grapow M., Fassl J., Eckstein F.S. Aortic valve replacement using autologous pericardium: single centre experience with the Ozaki technique. Swiss Med Wkly. 2018;148(56). doi:10.4414/smw.2018.14591

19. Iida Y., Fujii S., Akiyama S., Sawa S. Early and mid-term results of isolated aortic valve neocuspidization in patients with aortic stenosis. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2018;66(11):648-652. doi:10.1007/s11748-018-0976-0

20. Iida Y., Sawa S., Fujii S., Shimizu H. Aortic valve neocuspidization in patients under 65 years old. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2020;68(8):780-784. doi:10.1007/s11748-020-01302-9

21. Pirola S., Mastroiacovo G., Arlati F.G., Mostardini G., Bonomi A., Penza E., Polvani G. Single Center Five Years' Experience of Ozaki Procedure: Midterm Follow-up. The Annals of Thoracic Surgery. 2021;111(6):1937-1943. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.08.039

22. Koechlin L., Schurr U., Miazza J., Imhof S., Maurer M., Erb J., Gahl B., Santer D., Berdajs D., Eckstein F.S., Reuthebuch O. Echocardiographic and Clinical Follow-up After Aortic Valve Neocuspidization Using Autologous Pericardium. World J Surg. 2020;44(9):3175-3181. doi:10.1007/s00268-020-05588-x

23. Mylonas K.S., Tasoudis P.T., Pavlopoulos D., Kanakis M., Stavridis G.T., Avgerinos D.V. Aortic valve neocuspidization using the Ozaki technique: A meta-analysis of reconstructed patient-level data. American Heart Journal. 2023;255:1-11. doi:10.1016/j.ahj.2022.09.003

24. Unai S., Ozaki S., Johnston D.R., Saito T., Rajeswaran J., Svensson L.G., Blackstone E.H., Pettersson G.B. Aortic Valve Reconstruction With Autologous Pericardium Versus a Bioprosthesis: The Ozaki Procedure in Perspective. JAHA. 2023;12(2):e027391. doi:10.1161/JAHA.122.027391

REFERENCES

1. Otto C.M., Nishimura R.A., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P. 3rd, Gentile F., Jneid H., Krieger E.V., Mack M., McLeod C., O'Gara P.T., Rigolin V.H., Sundt T.M. 3rd, Thompson A., Toly C. 2020 ACC/AHA Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. Circulation. 2021;143(5). doi:10.1161/CIR.0000000000000932

2. Ross D.N.. Surgical reconstruction of the aortic valve. Lancet. 1963;1(7281):571-4. doi: 10.1016/s0140-6736(63)92687-4

3. Love C.S., Love J.W. The Autogenous Tissue Heart Valve: Current Status. J Cardiac Surgery. 1991;6(4):499-507. doi:10.1111/j.1540-8191.1991.tb00351.x

4. Subramanian S., Tikhomirov V., Bharati S., ElZein C., Roberson D., Ilbawi M.N. Relationship of Normal Aortic Valve Cusp Dimensions: A Tool to Optimize Cusp Reconstruction Valvuloplasty. Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2016;28(2):521-527. doi:10.1053/j.semtcvs.2015.08.005

5. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Nozawa Y., Takatoh M., Hagiwara S. A total of 404 cases of aortic valve reconstruction with glutaraldehyde-treated autologous pericardium. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2014;147(1):301-306. doi:10.1016/j.jtcvs.2012.11.012

6. Park T., Kim S., Cho Y., Park K., Park J.S., Kim M.H, Kim Y.D. Asymmetric aortic valve is related to development of eccentric aortic regurgitation in patients with tricuspid aortic valve. Echocardiography. 2019;36(6):1035-1040. doi:10.1111/echo.14374

7. Joseph L., Krishnaswamy A., Tuzcu E.M., Sonny A., Ozkan A., Svensson L.G., Griffin B.P., Thomas J., Kapadia S.R. Relation of cuspal asymmetry to development of aortic stenosis in adults with tricuspid aortic valves. J Heart Valve Dis. 2014;23(4):395-405

8. Dzhioeva O.N., Maksimova O.A., Rogozhkina E.A., Drapkina O.M. Aspects of transthoracic echocardiography protocol in obese patients. Russ J Cardiol. 2023;27(12):5243. doi:10.15829/1560-4071-2022-5243 (In Russian)

9. Komarov R.N., Katkov A.I., Odinokova S.N. Current anatomical ideas about the aortic root structure from surgical point of view. Kardiol serdechno-sosud khir. 2019;12(5):433. doi:10.17116/kardio201912051433 (In Russian)

10. Komarov R.N., Yasnopolskaya N.V., Chernyavsky S.V., Katkov A.I. Ozaki procedure for aortic valve replacement. Kardiol serdechno-sosud khir. 2017;10(5):72. doi:10.17116/kardio201710572-73 (In Russian)

11. Sarrafzadeh-Ghadimi N., Ghalichi F., Niroomand-Oscuii H., Fatouraee N. Design of an aortic polymeric valve with asymmetric leaflets and evaluation of its performance by finite element method. Computers in Biology and Medicine. 2022;145:105440. doi:10.1016/j.compbiomed.2022.105440

12. Joseph L, Krishnaswamy A., Tuzcu E.M., Sonny A., Ozkan A., Svensson L.G., Griffin B.P., Thomas J., Kapadia S.R. Relation of cuspal asymmetry to development of aortic stenosis in adults with tricuspid aortic valves. J Heart Valve Dis. 2014;23(4):395-405.

13. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Nozawa Y., Matsuyama T., Takatoh M., Hagiwara S. Aortic valve reconstruction using self-developed aortic valve plasty system in aortic valve disease. Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery. 2011;12(4):550-553. doi:10.1510/icvts.2010.253682

14. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Takatoh M., Kiyohara N. Midterm outcomes after aortic valve neocuspidization with glutaraldehyde-treated autologous pericardium. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2018;155(6):2379-2387. doi:10.1016/j.jtcvs.2018.01.087

15. Krane M., Boehm J., Prinzing A., Ziegelmueller J., Holfeld J., Lange R. Excellent Hemodynamic Performance After Aortic Valve Neocuspidization Using Autologous Pericardium. The Annals of Thoracic Surgery. 2021;111(1):126-133. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.04.108

16. Benedetto U., Sinha S., Dimagli A., Dixon L., Stoica S., Cocomello L., Quarto C., Angelini G.D., Dandekar U., Caputo M. Aortic valve neocuspidization with autologous pericardium in adult patients: UK experience and meta-analytic comparison with other aortic valve substitutes. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2021;60(1):34-46. doi:10.1093/ejcts/ezaa472

17. Ozaki S., Kawase I., Yamashita H., Uchida S., Takatoh M., Hagiwara S., Kiyohara N. Aortic Valve Reconstruction Using Autologous Pericardium for Aortic Stenosis. Circ J. 2015;79(7):1504-1510. doi:10.1253/circj.CJ-14-1092

18. Reuthebuch O., Koechlin L., Schurr U., Grapow M., Fassl J., Eckstein F.S. Aortic valve replacement using autologous pericardium: single centre experience with the Ozaki technique. Swiss Med Wkly. 2018;148(56). doi:10.4414/smw.2018.14591

19. Iida Y., Fujii S., Akiyama S., Sawa S. Early and mid-term results of isolated aortic valve neocuspidization in patients with aortic stenosis. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2018;66(11):648-652. doi:10.1007/s11748-018-0976-0

20. Iida Y., Sawa S., Fujii S., Shimizu H. Aortic valve neocuspidization in patients under 65 years old. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2020;68(8):780-784. doi:10.1007/s11748-020-01302-9

21. Pirola S., Mastroiacovo G., Arlati F.G., Mostardini G., Bonomi A., Penza E., Polvani G. Single Center Five Years' Experience of Ozaki Procedure: Midterm Follow-up. The Annals of Thoracic Surgery. 2021;111(6):1937-1943. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.08.039

22. Koechlin L., Schurr U., Miazza J., Imhof S., Maurer M., Erb J., Gahl B., Santer D., Berdajs D., Eckstein F.S., Reuthebuch O. Echocardiographic and Clinical Follow-up After Aortic Valve Neocuspidization Using Autologous Pericardium. World J Surg. 2020;44(9):3175-3181. doi:10.1007/s00268-020-05588-x

23. Mylonas K.S., Tasoudis P.T., Pavlopoulos D., Kanakis M., Stavridis G.T., Avgerinos D.V. Aortic valve neocuspidization using the Ozaki technique: A meta-analysis of reconstructed patient-level data. American Heart Journal. 2023;255:1-11. doi:10.1016/j.ahj.2022.09.003

24. Unai S., Ozaki S., Johnston D.R., Saito T., Rajeswaran J., Svensson L.G., Blackstone E.H., Pettersson G.B. Aortic Valve Reconstruction With Autologous Pericardium Versus a Bioprosthesis: The Ozaki Procedure in Perspective. JAHA. 2023;12(2):e027391. doi:10.1161/JAHA.122.027391

Для цитирования: *Комаров Р.Н., Ткачёв М.И., Исаев Р.М., Башмаков Н.С., Савина В.А., Дхиф И. Протезирование аортального клапана аутоперикардом без использования шаблонов: непосредственные и среднеотдаленные результаты. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2023;12(3): 27-37. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-3-27-37*

To cite: *Komarov R.N., Tkachev M.I., Isaev R.M., Bashmakov N.S., Savina V.A., Dhif I. Aortic valve replacement using autologous pericardium without templates: short and mid-term outcomes. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2023;12(3): 27-37. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-3-27-37*

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Р.Е. Токмачев, А.Я. Кравченко, А.В. Будневский, Д.С. Демидова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия; ул. Студенческая, д. 10 г. Воронеж, 394036, Россия

PHYSICAL REHABILITATION INFLUENCE ON THE COURSE OF HEART FAILURE

R.E. Tokmachev, A.Ya. Kravchenko, A.V. Budnevsky, D.S. Demidova

Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko 10, Studencheskaya srt., Voronezh, 394036, Russia

Изучение статистических отчетов заболеваемости и причин смертности во втором десятилетии 21 века, как в РФ, так и в мире в целом, отражает значительный вклад хронических неинфекционных заболеваний в смертность (около 41 млн человек), что составляет около 71 % всех случаев [1], из них более 15 млн. человек умирают в возрасте от 30 до 69 лет. ХНИЗ существенно сказываются на системах здравоохранения и социального обеспечения всех стран. Расходы на медицинскую помощь значимо растут с увеличением числа сочетанных заболеваний (коморбидности) [2]. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является широко распространенным сердечно-сосудистым заболеванем. В РФ диагноз ХСН фигурирует у 7-10 % всего населения страны, при этом в 21 веке по сравнению с последним десятилетием 20-го века количество пациентов с СН увеличилось более чем в 2 раза: с 7,18 до 14,92 млн., а пациентов с тяжелой ХСН III–IV ФК – в 3,4 раза: с 1,76 до 6 млн. человек [3]. Декомпенсация ХСН является одной из ведущих причин госпитализации в кардиологические отделения (до 49% случаев) и сопутствующей патологией у 92% пациентов. При этом среди госпитализированных больных с СН годовая смертность составляет 17%, а среди амбулаторных – 7% [4].

Устойчивость развития общества напрямую связана с социально-экономическими последствиями ХНИ. В соответствии с этим всемирной организацией здравоохранения на период до 2030 года поставлена глобальная задача по уменьшению числа случаев преждевременной смерти от этих заболеваний на одну треть. В соответствии с этим, возможность реабилитации пациентов и, соответственно, снижения заболеваемости, числа госпитализаций и социально-экономической нагрузки для государства приобретает особое значение. В литературе появляется все больше исследований, посвященных различным комплексным реабилитационным программам пациентов с сердечно-сосудистыми, заболеваниями. Однако практически отсутствуют исследования, в которых прослеживалась эффективность реабилитации пациентов с различной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ).

Цель: исследования являлось изучение влияния физической реабилитации на функциональное состояние, уровни провоспалительных цитокинов и биомаркера сосудистового воспаления вч-Срб у пациентов с различной фракцией выброса ХСН.

Материалы и методы

На первом этапе исследования (2020 год) из 2000 пациентов, находящихся на учете в региональном Регистре больных ХСН Воронежской области, с учетом возможного выбытия пациентов из исследования, в первичную выборку было включено 160 пациентов в возрасте от 40 до 70 лет с диагнозом ХСН ишемического генеза (из них - 84 мужчины и 76 женщин, средний возраст 69,4±8,8 лет). Исследование было рассмотрено и одобрено этическим комитетом ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, пациентами подписано согласие на участие в исследовании.

Постановка диагноза ХСН производилась на основании критериев клинических рекомендаций по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности European Society of Cardiology (ESC) 2016, клинических рекомендациях по диагностике и лечению хронической сердечной недостаточности (2020) Минздрава России. Все больные получали лечение согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению хронической сердечной недостаточности (2020г). Функциональный класс (ФК) ХСН пациентов был определен согласно классификации New York Heart Association (NYHA) (1994) по результатам теста 6-минутной ходьбы (ТШХ) с использованием комплекса кардиореспираторного анализа [5].

В соответствии с дизайном исследования были сформированы две группы пациентов в зависимости от ФВ ЛЖ. Первая группа (n=69) - пациенты с ХСНсФВ (ФВ≥50%). Вторая группа (n= 91)- ХСНснФВ (ФВ<50%). В исследование не включались пациенты с бронхо-легочными заболеваниями (в т. ч. БА, ХОБЛ), ХБП 3б стадии и выше, СД (или прием гипогликемических препаратов), постоянной формой ФП, анемией, заболеваниями опорно-двигательной системы (коксартроз, гонартроз и др., снижающих двигательную активность), ожирением (2-3 степени), онкологическими заболеваниями; с установленным диагнозом «хроническое легочное сердце».

После первичного обследования также в соответствии с дизайном исследования обе группы случайным образом (с помощью таблицы случайных чисел, сгенерированной в программе statistica) были разделены на подгруппы: 1-я подгруппа- пациенты со стандартной медикаментозной терапией (СМТ) и физической реабилитацией (ФР) в течение двенадцати месяцев; 2-я подгруппа- пациенты, получавшие исключительно СМТ. Реабилитация пациентов с ХСН представляла собой годичную программу назначаемых на основе определяемой индивидуально толерантности к нагрузке физических упражнений (тренировок); модификацию факторов риска (сердечно-сосудистых и несердечных; индивидуально) и обучение пациентов и их родственников с оценкой и мониторингом функционального состояния больного. В зависимости от ФК, определенного с помощью ТШХ, определялся распорядок дня: дневная

активность (полноценная и сниженная), продолжительность дневного и ночного сна, продолжительность обязательной динамической физической нагрузки. Пациенты IV ФК ХСН (в т.ч. с кахексией) на начальном этапе ФР участвовали в подготовительном курсе, включавшем упражнения для тренировки мышц вдоха и выдоха, упражнения для мелких групп мышц. Длительность каждого занятия составляла от 20 до 30 минут. В зависимости от переносимости пациентами, тренировки повторяли от 3 до 5 раз в неделю.

Курс ФР пациентов III ФК включал упражнения для тренировки мышц вдоха и выдоха, упражнения для мелких и крупных групп мышц, а также ходьбу с комплексом кардиореспираторного анализа (КРАн). Пациентам с I и II ФК также назначались упражнения с утяжелением для мелких и крупных групп мышц; ходьба с комплексом кардиореспираторного анализа. Для контроля темпа ходьбы использовался разговорный тест: оптимальный темп (пациент мог свободно разговаривать во время ходьбы); темп ходьбы мал (возможность петь во время ходьбы); темп ходьбы слишком высок (невозможность поддержания разговора во время ходьбы). Методика проведения физических нагрузок в форме ходьбы имела 3 категории. I-я категория- ходьба на расстояние 1 км, максимальное время выполнения 25 минут с периодичностью занятий пять раз в неделю; при стабильной клинической картине переходили ко II категории. II-я категория- ходьба на расстояние 2 км, максимальное время выполнения 40 минут с периодичностью занятий пять раз в неделю; при стабильном клиническом течении СН пациентов переводили на постоянную форму занятий, которая заключалась в ходьбе с КРАн и прогрессивным повышением нагрузки до скорости 6 км/ч с длительностью 40 минут и постепенной титрацией нагрузки до восьми месяцев.Все пациенты, включенные в исследование, в течении года имели возможность связи с врачом-кардиологом, контролировавшим прием препаратов, соблюдение индивидуальных рекомендаций по выполнению физических упражнений раз в три месяца. В течении года из исследования выбыли 15 человек в связи с наступлением одной из конечных точек (смерть). Оставшиеся 145 пациентов прошли повторное обследование.

С помощью КРАн[6] проводилось определение толерантности к ФН. Для объективизации функционального статуса пациентов и исключения разницы таких важных характеристик, как возраст, пол и антропометрические показатели, дистанцию, пройденную в ТШХ (6MWD), по общепринятым формулам переводили в должный показатель 6MWD (i). На этапе включения пациентов в исследование проведено лабораторное определение уровней Nt-концевого фрагмента BNP, вч-Срб, ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α. Через 12 мес. проведено повторное клиническое, функциональное и лабораторное обследование пациентов.

Пакет программ Statistica 12.0 использовался для проведения статистического анализа. Нормальность распределения данных определялась в тесте Шапира-Уилка. Исходные

непрерывные переменные в случае нормального распределения представлены в виде среднего±стандартного отклонения. Для их сравнения использован t-критерий Стьюдента. Статистически достоверными различия между подгруппами считались при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты

При включении пациентов в исследование лабораторное обследование показало, что средний уровень NT-proBNP (табл. 1) у пациентов с ХСНсФВ (гр.1) был значительно ниже в уровня NT-proBNP пациентов группы 2 (ХСНснФВ) ($p<0,001$). Уровень вч-Срб у пациентов с ХСНснФВ (гр.2) был статистически ниже при сравнении с данным показателем в группе 1 (ХСНсФВ) ($p<0,001$) (табл. 1,3).

Анализ показателей цитокинового профиля продемонстрировал повышенный уровень ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α в обеих группах пациентов (ХСНсФВ и ХСНснФВ). Более высокий уровень субклинического воспаления в группе пациентов с ХСНсФВ, возможно, отражает значимость системного субклинического воспалительного процесса в развитии и течении СН. Результаты анализа содержания маркеров воспаления в крови у больных представлены в таблице 1.

Для оценки функционального статуса пациентов использовались комплекс КРАн и СМП с ХСН. Расстояние, пройденное в тесте с ФН (табл. 2), у пациентов с сохраненной ФВ было больше в сравнении с показателями пациентов со сниженной ФВ ($p=0,04$). Оценка отношения 6MWD/6MWD(i) (табл. 2) также продемонстрировала достоверно более низкое среднее значение данного показателя в группе ХСНснФВ. В исследовании не получено достоверных различий значений частоты сердечных сокращений (ЧСС) до начала и после окончания теста с ФН. В процессе проведения ТШХ устройство не фиксировало субмаксимальных значений ЧСС у испытуемых. Сатурация крови кислородом (SpO2) до начала теста с ФН в исследуемых подгруппах не имела различий. Однако после поведения ТШХ данный параметр оказался достоверно ниже в группе пациентов с ХСНснФВ (табл. 2). В свою очередь, данная группа пациентов имела более высокие баллы по шкале Борга, отражающие степень одышки после проведения нагрузочных проб, что свидетельствует о более низкой толерантности и худшей переносимости ФН, сравнимой с повседневной активностью (таблица 2).

При сравнении подгрупп по уровням биомаркеров (табл. 4) через 12 мес. наблюдения отмечено снижение уровня NT-proBNP и hs-CRP в подгруппах пациентов, проходивших физическую реабилитацию. Данный факт может свидетельствовать о положительном воздействии правильно подобранной физической активности на компенсацию кровообращения и течение ХСН.

Проведенный через 12 мес. повторный анализ показателей уровней провоспалительных цитокинов продемонстрировал, что повышение их уровней, отмеченное при включении

пациентов в исследование, сохранялось во всех исследуемых группах. Однако, в подгруппах пациентов, получавших исключительно СМТ, уровни биомаркеров системного субклинического воспаления достоверно были выше в сравнении с подгруппой с ФР+СМТ. Так, уровень ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α в подгруппе пациентов с ХСНсФВ, прошедших физическую реабилитацию (подгр.1.1), снизились на 11,6%, 12,3% и 11,0% соответственно, а в подгруппе пациентов с ХСНснФВ - на 7,1%, 10,1%, 8,6% соответственно. Результаты анализа содержания маркеров воспаления у больных в динамике представлены в таблице 5.

Достоверных различий в значениях ЧСС как до, так и после выполнения ТШХ в исследуемых группах получено не было. Уровень содержания кислорода в крови (SpO2) до начала проведения теста с ФН в исследуемых подгруппах не имел статистической разницы. Однако, проведение теста с ФН привело к достоверно значимому снижению сатурации крови кислородом в подгруппе пациентов с ХСНснФВ. Также в данной группе пациентов отмечаются более высокие баллы по шкале Борга, отражающие степень одышки, что свидетельствуют о более низкой толерантности к ФН (таблица 6).

Годовая программа ФР привела к улучшению переносимости ФА (функционального статуса, оцениваемому в ТШХ). Так, у пациентов с ХСН, прошедших ФР, независимо от ФВ пройденное в течении 6 минут расстояние и отношение 6MWD/6MWD(i) статистически значимо увеличилось, как в сравнении с контрольными подгруппами (1.2, 2.2) (табл.6), так и исходными показателями на этапе включения пациентов в исследование ($p<0,001$).

Обсуждение

Диагностическая и прогностическая значимость определения NT-proBNP как маркера ХСН ограничивается множеством факторов, способных повлиять на его уровень. Считается, что дополнительная информация о вероятности неблагоприятного течения СН может быть получена с помощью биомаркаре эндогенного воспаления- вч-Срб. Так, его повышение свидетельствует о неинфекционном воспалительном процессе в миокарде и сосудах, что можно отнести к патофизиологическим механизмам ремоделирования миокарда, отличающегося от изменений в сердце при его гипертрофии и ишемии.

Полученный нами более высокий уровень провоспалительных цитокинов, вч-Срб в группе пациентов с сохраненной ФВ может отражать влияние системного субклинического воспаления на развитие и течение СН с сохраненной ФВ. Этот компонент отличает механизмы ремоделирования миокарда от изменений в сердце при его гипертрофии и ишемии, приводящих к снижению ФВ ЛЖ [7-8]. Очевидно, причиной снижения физической активности при СН является целый ряд различных факторов. При обследовании пациентов с СН часто выявляется снижение массы тела за счет безжировой части. Проведенное исследование наглядно демонстрирует более высокий уровень активности таких провоспалительных цитокинов, как

ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с пациентами с ХСНснФВ. Таким образом, к важным факторам, приводящим к дистрофии мышечной системы и, соответственно, снижению ФА, стоит отнести влияние системного субклинического воспаления.

Заключение

Исследование отражает один из патофизиологических компонентов иммунно-воспалительной концепции развития и прогрессирования СНсФВ. Повышение вч-Срб, ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 может свидетельствовать о неинфекционном воспалительном процессе, что может являться одним из патофизиологических механизмов ремоделирования миокарда, дистрофии мышечной системы и, соответственно, снижения переносимости ФН.

Также в исследовании отмечено положительное влияние физической реабилитации пациентов с СН: улучшение функционального статуса, снижение уровня NT-proBNP, провоспалительных цитокинов и вч-Срб в сравнении с результатами ведения пациентов исключительно на медикаментозной терапии ХСН (без реабилитации).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. WHO. Noncommunicable Diseases: Mortality, 2019. Available from: https://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/en/
2. Budreviciute A, Damiati S, Sabir DK, Onder K, Schuller-Goetzburg P, Plakys G, Katileviciute A, Khoja S, Kodzius R. Management and Prevention Strategies for Non-communicable Diseases (NCDs) and Their Risk Factors. Front Public Health. 2020;8:574111. Published 2020 Nov 26. DOI:10.3389/fpubh.2020.574111
3. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграмбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А., Гендлин Г.Е., Глезер М.Г., Готье С.В., Довженко Т.В., Кобалава Ж.Д., Козиолова Н.А., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г., Перепеч Н.Б., Тарловская Е.И., Чесникова А.И., Шевченко А.О., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н., Галявич А.С., Гиляревский С.Р., Драпкина О.М., Дупляков Д.В., Лопатин Ю.М., Ситникова М.Ю., Скибицкий В.В., Шляхто Е.В. Клинические рекомендации ОССН - РКО - РНМОТ. сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). диагностика, профилактика и лечение. Кардиология. 2018;58(6S):8-158. [Mareev V.Yu., Fomin I.V., Ageev F.T., Begrambekova Yu.L., Vasyuk Yu.A., Garganeeva A.A., Gendlin G.E., Glezer M.G., Gautier S.V., Dovzhenko T.V., Kobalava Z.D., Koziolova N.A., Koroteev A.V., Mareev Yu.V., Ovchinnikov A.G., Perepech N.B., Tarlovskaya E.I., Chesnikova A.I., Shevchenko A.O., Arutyunov G.P., Belenkov Yu.N., Galyavich A.S., Gilyarevsky S.R., Drapkina O.M., Duplyakov D.V., Lopatin Yu.M., Sitnikova M.Yu., Skibitsky V.V., Shlyakhto E.V. Russian Scientific Medical Society of Internal Medicine Guidelines for Heart failure: chronic (CHF) and acute decompensated (ADHF).

Diagnosis, prevention and treatment. Kardiologiia. 2018;58(6S):8-158.] (in Russian) DOI: 10.18087/cardio.2475

4. Сотникова М.А., Джериева И.С. Анализ пятилетней выживаемости пациентов и определение наиболее вероятных причин развития смертельных исходов от хронической сердечной недостаточности», 2016 [Sotnikova M.A., Jerieva I.S. Analysis of five-year survival of patients and determination of the most likely causes of death from chronic heart failure».] 2016. (in Russian)
5. Токмачев Р.Е., Будневский А. В., Кравченко А. Я., Натаров А.А., Остроушко Н.И., Шкатова Я.С., Концевая А.В. Комплекс кардиореспираторного анализа. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2021668162, 10.11.2021. Заявка № 2021667414 от 02.11.2021 [Tokmachev R.E., Budnevsky A.V., Kravchenko A.Y., Natarov A.A., Ostroushko N.I., Shkatova Ya.S., Koncevaya A.V. Complex of cardiorespiratory analysis. Certificate of registration of the computer program 2021668162, 10.11.2021. Application No. 2021667414 dated 02.11.2021.] (in Russian)
6. Будневский А.В., Пронин С.С., Концевая А.В., Натаров А.А., Кравченко А.Я., Токмачев Р.Е., Остроушко Н.И., Меловатский А.Ю., Шкатова Я.С., Черник Т.А., Красникова Ю.А. Система мониторинга пациентов с хронической сердечной недостаточностью. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2020619003, 10.08.2020. Заявка № 2020617561 от 22.07.2020. [Budnevsky A.V., Pronin S.S., Kontsevaya A.V., Natarov A.A., Kravchenko A.Y., Tokmachev R.E., Ostroushko N.I., Melovatsky A.Yu., Shkatova Ya.S. Monitoring system for patients with chronic heart failure. Certificate of registration of the computer program 2020619003, 08/10/2020. Application No. 2020617561 dated 22.07.2020.] (in Russian)
7. Токмачев Р.Е., Будневский А.В., Кравченко А.Я. Роль воспаления в патогенезе хронической сердечной недостаточности. Терапевтический архив. [Tokmachev RE, Budnevsky AV, Kravchenko AY. The role of inflammation in the pathogenesis of chronic heart failure. Ter Arkh. 2016;88(9):106-110.] (in Russian) DOI: 10.17116/terarkh2016889106-110.
8. Будневский А.В., Шурупова А.Д., Кравченко А.Я., Токмачев Р.Е. Клиническая эффективность профилактики острых респираторных вирусных инфекций у больных хронической сердечной недостаточностью. Терапевтический Архив. 2019;91(3):36-41. [Budnevsky A.V., Shurupova A.D., Kravchenko A.Y., Tokmachev R.E.. Clinical efficacy of acute respiratory viral infections prevention in patients with chronic heart failure. Ter Arkh. 2019;91(3):36-41] (in Russian) DOI: 10.26442/00403660.2019.03.000111

Таблица 1.

Уровни провоспалительных цитокинов у пациентов в группах сравнения.

Группы пациентов	Цитокины					
	ИЛ-1β	p	ИЛ-6	p	ФНО-α	p
1-я гр. (ХСНсФВ)	121,9± 25,4	0,03	298,2±35,8	0,006	163,4±27,2	0,04
2-я гр. (ХСНснФВ)	103,1± 21,0		186,5± 29,6		143,0±24,9	

Таблица 2.

Сравнительная характеристика параметров ТШХ, динамической пульсоксиметрии, ЧСС, степени одышки у пациентов в исследуемых группах (при включении в исследование, 2020 г.)

Показатель	Группа 1 (ХСНсФВ)	Группа 2 (ХСНснФВ)	Значение p
6MWD, м	301,5±153,5	251,5±183,5	0,04
6MWD, % от должного	53,0±29,2	48,1±30,5	0,01
ЧСС перед ТШХ, уд/мин	79,1±15,2	83,1±16,4	0,18
ЧСС после ТШХ, уд/мин	102,4±17,5	109,4±17,2	0,15
SpO2 перед ТШХ, %	99,1±2,0	98,6±2,4	0,12
SpO2 после ТШХ, %	97,5±3,0	96,1±3,3	0,03
Результат оценки одышки по шкале Борга, баллы	2,41±0,17	3,83±0,32	0,01

Примечание: ЧСС – частота сердечных сокращений, 6MWD – дистанция, пройденная в тесте шестиминутной ходьбы; SpO2 – сатурация крови кислородом.

Таблица 3.

Исходная характеристика изучаемых подгрупп по основным демографическим параметрам, конфаундерам, лабораторным и функциональным параметрам

	подгр.1.1 (ХСНсФВ), n=34	подгр.1.2 (ХСНсФВ), n=35	подгр.2.1 (ХСНснФВ), n=45	подгр.2.2 (ХСНснФВ), n=46
Возраст	71,1±8,8	70,9±8,9	67,7±7,2	67,2±7,0
Мужской пол, n (%):	18 (52,9%)	18 (51,4%)	24 (53,3%)	24 (52,2%)
ИМ в анамнезе, n (%):	7 (20,6%)	8 (22,8%)	18 (40,0%)	17 (36,9%)
Артериальная гипертония, n (%):	30 (88,2%)	30 (85,7%)	43 (95,5%)	42 (91,3%)
Фибрилляция предсердия (пароксизмальная ф-ма), n (%):	5 (14,7%)	4 (11,4%)	10 (22,2%)	11 (23,9%)
ИМТ, медиана [Q1; Q3]	30,1 [26,8;33,7]	29,7 [26,8;32,7]	31,1 [29,1;37,4]	30,9 [29,1;37,4]
NT-proBNP	801±125	817±129	1176±192	1168±189

вч-Срб	3.75±0,63	3.67±0,60	2.57±0,58	2.64±0,6
ИЛ-1β	121,2± 25,1	122,7± 25,5	103,5± 21,1	102,6± 20,7
ИЛ-6	296,2±34,9	298,4±36,1	186,9± 29,2	185,8± 29,7
ФНО-α	163,7±27,4	163,1±27,0	143,7±25,1	142,8±24,5
6MWD, м	300,3±153,0	301,8±153,9	251,7±183,9	250,8±182,7
6MWD, % от должного	53,2±29,0	52,8±29,2	48,4±31,0	48,0±30,2
ЧСС перед ТШХ, уд/мин	79,7±15,3	78,9±15,0	83,5±16,5	83,0±16,1
ЧСС после ТШХ, уд/мин	102,2±17,4	102,5±17,5	108,6±17,1	109,7±17,3
SpO2 перед ТШХ, %	99,2±2,1	99,0±2,0	98,7±2,5	98,5±2,3
SpO2 после ТШХ, %	97,4±3,0	97,5±3,1	96,0±3,3	96,2±3,4
Результат оценки одышки по шкале Борга, баллы	2,38±0,16	2,42±0,17	3,79±0,31	3,84±0,32

Показатели статистически значимо не различались в подгруппах 1.1 и 1.2, 2.1 и 2.2. Значения p>0,05.

Таблица 4.

Уровни NT-proBNP и вч-Срб в подгруппах сравнения через 12 мес.

Подгруппы пациентов	NT-proBNP	p	вч-Срб	p
подгр.1.1 (ХСНсФВ)	476±82	p<0,001	2,9±0,56	0,02
подгр.1.2 (ХСНсФВ)	796±121		3,6±0,62	
подгр.2.1 (ХСНснФВ)	897±136	p=0,005	2,05±0,48	0,046
подгр.2.2 (ХСНснФВ)	1129±185		2,2±0,51	

Таблица 5.

Уровни провоспалительных цитокинов у пациентов в группах сравнения через 12 мес. наблюдения

Подгруппы пациентов	Цитокиновый профиль					
	ИЛ-1β	p	ИЛ-6	p	ФНО-α	p
1.1 подгр. (ХСНсФВ)	106,9± 21,8	0,037	261,4±31,4	0,001	145,4± 25,1	0,005
1.2 подгр. (ХСНсФВ)	120,3± 25,4		295,2±35,1		163,4± 27,2	
2.1 подгр. (ХСНснФВ)	95,8±20,1	0,041	167,6±26,3	0,05	130,7± 22,8	0,044
2.2 подгр. (ХСНснФВ)	103,4± 21,4		182,1± 28,8		141,9± 23,4	

Таблица 6.

Сравнительная характеристика параметров ТШХ, динамической пульсоксиметрии у больных в исследуемых подгруппах с изолированно протекающей ХСН (после прохождения физической реабилитации и года наблюдения)

Показатель	Подгруппа 1.1 ХСНсФВ	Подгруппа 1.2 ХСНсФВ	Значение p1	Подгруппа 2.1 ХСНснФВ	Подгруппа 2.2 ХСНснФВ	Значение p2
6MWD, м	462±164	347,8±123	0,04	303±153	202±130	0,005
6MWD, % от должного	73,0±18,6	56,0±24,2	0,01	60,4±28,5	44,1±20,9	0,02
ЧСС перед ТШХ, уд/мин	72,2±10,7	75,1±15,2	0,18	79,1±13,2	85,8 ± 16,5	0,16
ЧСС после ТШХ, уд/мин	91,8±20,1	100,8±22,5	0,05	102,4±17,2	115,3 ± 14,1	0,15
SpO2 перед ТШХ, %	99,0±1,0	98,5±1,5	0,12	98,6±1,1	97,1±2,6	0,26
SpO2 после ТШХ, %	98,2±1,5	97,1±2,5	0,05	97,7±2,0	95,8±2,5	0,001
Результат оценки одышки по шкале Борга, баллы	2,00±0,18	2,37±0,19	0,05	3,35±0,30	5,11±0,39	0,001

Примечание: 6MWD – дистанция, пройденная в тесте шестиминутной ходьбы; SpO2 – сатурация крови кислородом. p1- уровень значимости различий в подгруппах пациентов с ХСНсФВ через год наблюдения; p2- уровень значимости различий в подгруппах пациентов с ХСНснФВ через год наблюдения.

СВЯЗЬ АТЕРОГЕННЫХ ЛИПОПРОТЕИДОВ С РАННИМ РАЗВИТИЕМ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

А.В. Тюрина (Aleksandra Tyurina)

Цель. Оценить взаимосвязь различными показателями липидного спектра с ранней манифестацией ишемической болезни сердца (ИБС).

Материал и методы. В проспективное исследование с ретроспективным сбором данных были включены 300 человек: 200 больных с ранней манифестацией ИБС (до 60 лет у женщин и до 55 лет у мужчин), возраст которых на момент включения в исследование составил 59±9 лет, и 100 лиц контрольной группы в возрасте 64±10 лет без ИБС и стенозирующего атеросклероза в коронарном и периферических бассейнах. Средний возраст манифестации ИБС составил 47±7 лет. Всем пациентам определялся общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП), холестерин, не связанный с липопротеидами высокой плотности (ХС неЛВП), и концентрация липопротеида(а) (Лп(а)), рассчитан уровень корригированного ХС ЛНП (ХС $ЛНП_{корр}$), учитывающий холестерин, входящий в состав частицы Лп(а).

Результаты. Анализ кривых выживаемости Каплана-Мейера продемонстрировал, что у пациентов с концентрацией Лп(а) ≥30 мг/дл ИБС дебютировала на 7 лет раньше в сравнении с пациентами с Лп(а) <30 ммоль/л — 49 vs 56 лет, p <0,01. При этом у пациентов с гиперлипопротеидемией(а) и исходным уровнем ХС $ЛНП_{корр}$ <3 ммоль/л ИБС развивалась на 3 года раньше, чем у лиц с нормальным Лп(а) и повышенным уровнем ХС $ЛНП_{корр}$. Увеличение концентрации Лп(а) на каждые 10 мг/дл увеличивало риск раннего развития ИБС на 13% вне зависимости от наличия классических факторов риска.

Заключение. Уровень Лп(а) ≥30 мг/дл ассоциируется с развитием ИБС на 7 лет раньше, чем у лиц с Лп(а) <30 мг/дл. В то же время, у пациентов с гиперЛп(а) и нормальным уровнем ХС $ЛНП_{корр}$ ИБС манифестирует раньше на 3 года раньше, чем у лиц с нормальным уровнем Лп(а) и повышенным ХС $ЛНП_{корр.}$

Введение. Нарушение липидного обмена является фактором риска развития атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС). Раннее развитие ИБС может быть связано с различными факторами риска, однако, согласно «липидной теории», атерогенные липопротеиды являются основной причиной развития и прогрессирования атеросклероза. В мировом медицинском сообществе уделяется большое внимание контролю показателей липидного спектра, однако с накоплением новых данных становится очевидным, что определения общего холестерина (ОХС) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП), недостаточно. Многочисленные исследования подтверждают, что повышенная концентрация липопротеида(а) (Лп(а)) или гиперлипопротеидемия(а) [гиперЛп(а)] является одним из наиболее значимых факторов риска атеросклероза. Выяснение значимости различных липидных показателей в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и определение новых мишеней рутинного контроля является важной медико-социальной задачей.

Цель. Оценить взаимосвязь между ранней манифестацией ИБС с различными показателями липидного спектра.

Материал и методы. Это проспективное исследование с ретроспективным сбором данных, в которое было включено 300 человек: 200 больных с ранней манифестацией ИБС (до 60 лет у женщин и до 55 лет у мужчин), возраст которых на момент включения в исследование составил 59±9 лет и 100 лиц контрольной группы в возрасте 64±10 лет, не имевшие ИБС и стенозирующего атеросклероза в коронарном и периферических бассейнах. В основной группе у 157 (78,5%) пациентов ИБС дебютировала инфарктом миокарда, у 43 (21,5%) пациентов – в виде стенокардии напряжения. Средний возраст манифестации ИБС был 47±7 лет. Всем пациентам определялись ОХС, ХС ЛНП, холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП), холестерин, не связанный с липопротеидами высокой плотности (ХС неЛВП), концентрация (Лп(а)), а также рассчитан уровень корригированного ХС ЛНП (ХС $ЛНП_{корр}$), учитывающего холестерин, входящий в состав частицы Лп(а), на момент манифестации ИБС; пациентам контрольной группы — на первом визите. Диагноз гиперлипидемии выставлялся при исходно выявленном уровне ХС ЛНП >3,0 ммоль/л, гиперЛп(а) — при уровне Лп(а) >30 мг/дл. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ MedCalc 20.106. Для определения нормальности распределения применяли тест Колмогорова-Смирнова. Показатели с нормальным распределением представляли как средние значения со стандартными отклонениями (M±SD), показатели с распределением, отличным от нормального — в виде медианы и значений 25- го и 75-го процентилей. При сравнении показателей между группами использовали непараметрический критерий U Манна-Уитни. Для сравнения частоты данных в группах применяли точный критерий Фишера. При многофакторном анализе использовали

метод логистической регрессии с введением в модель факторов риска, продемонстрировавших связь с развитием ранней ИБС в однофакторном корреляционном анализе. При создании модели учитывалось отсутствие внутренних корреляционных связей между оцениваемыми параметрами. Анализ выживаемости без ИБС осуществлялся с помощью кривых Каплана-Мейера.

Результаты

Группы были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела. В основной группе было больше мужчин, чаще регистрировали гиперлипидемию, ожирение, курение, семейный анамнез ССЗ, сахарный диабет (СД) 2 типа (таблица 1).

Таблица 1. Общая характеристика обследованных пациентов

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	p
	n = 200	n = 100	
Мужчины	166 (83)	62 (62)	<0,001
Возраст, лет	59±9	64±10	0,07
Индекс массы тела, кг/м^2	30±6	29±5	0,1
Ожирение	104 (52)	18 (38)	<0,05
Артериальная гипертония	174 (87)	62 (62)	<0,05
Курение	126 (63)	37 (37)	<0,0001
Отягощённый семейный анамнез	71 (36)	23 (23)	<0,05
Сахарный диабет 2 типа	60 (30)	14 (14)	<0,005
Гиперлипидемия	154 (77)	62 (62)	<0,01

Данные представлены как M±SD и n (%)

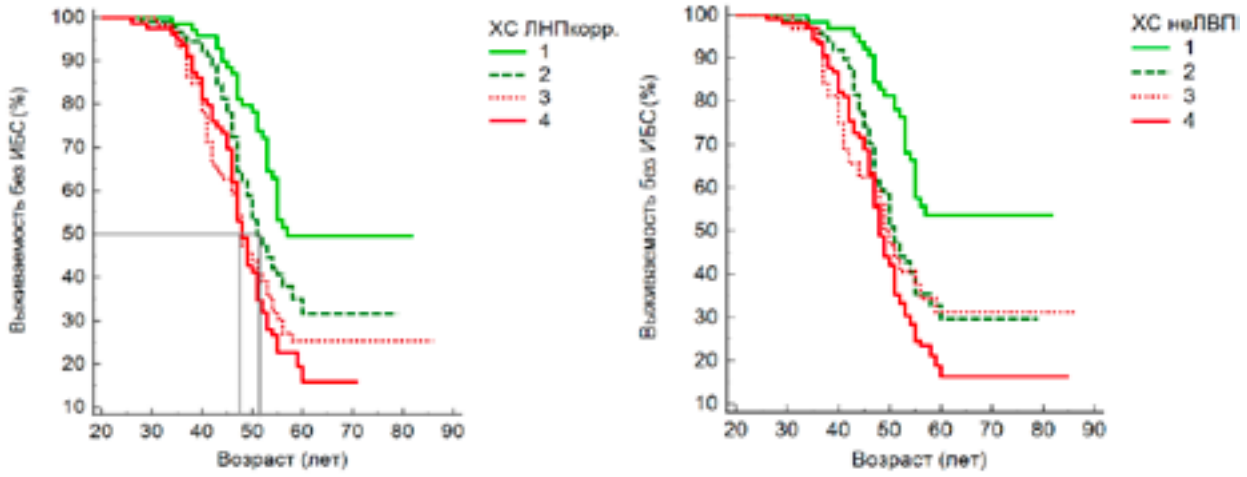
Исходная концентрация атерогенных липопротеидов (табл. 2) была достоверно выше у пациентов с ранней манифестацией ИБС.

Таблица 2. Показатели липидного спектра у обследованных пациентов

	Основная группа	Контрольная группа	p
	n = 200	n = 100	
Исходные показатели липидного профиля			
Общий холестерин, ммоль/л	6,2±1,9	5,4±1,2	<0,001
Триглицериды, ммоль/л	1,5 [1,1; 2,2]	1,3 [0,9; 1,9]	<0,001
ХС ЛВП, ммоль/л	1,2±0,3	1,4±0,4	<0,001
ХС ЛНП, ммоль/л	4,0±1,6	3,2±0,9	<0,001
ХС ЛНП$_{корр}$, ммоль/л	3,6±1,5	3±0,9	<0,001
ХС неЛВП, ммоль/л	5,1±1,8	4,0±1,1	<0,001
Лп(а), мг/дл	37 [11; 92]	12 [6; 34]	<0,0001
Лп(а) ≥30 мг/дл	105 (52,5%)	30 (30%)	<0,0001

Примечание к таблице 2: данные представлены как M±SD, где M – среднее, SD – стандартное отклонение для показателей с нормальным распределением данных, в виде медианы [интерквартильный интервал] – для показателей, не имеющих нормального распределения. ХС ЛВП - холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС ЛНП- холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС $ЛНП_{корр.}$ - холестерин липопротеидов низкой плотности, корригированного по содержанию холестерина в частице липопротеида(а), ХС неЛВП- холестерин, не связанный с липопротеидами высокой плотности, Лп(а)- липопротеид(а)

Любое нарушение липидного обмена приводит к более раннему развитию ИБС относительно лиц, имеющих нормальные показатели Лп(а) и ХС $ЛНП_{корр}$ (рис. 1 А) или ХС неЛВП (рис. 1 Б). В то же время, у пациентов с гиперЛп(а) и нормальным уровнем ХС $ЛНП_{корр}$ ИБС манифестирует раньше на 3 года раньше, чем у лиц с нормальным уровнем Лп(а) и повышенным ХС $ЛНП_{корр}$ – 48 (95% ДИ: 44 – 53) vs 51 (95% ДИ: 49 – 56), (рис. 1 А).



А **Б**

Рисунок 1 – Кривые выживаемости Каплана-Мейера в зависимости от исходных показателей концентраций Лп(а) и ХС $ЛНП_{корр}$ (А) или Лп(а) и ХС неЛВП (Б).
Примечание: обозначения: А — (1) Лп(а) <30 мг/дл, ХС $ЛНП_{корр}$ <3,0 ммоль/л; (2) Лп(а) <30 мг/дл, ХС $ЛНП_{корр}$ ≥3,0 ммоль/л; (3) Лп(а) ≥30 мг/дл, ХС ЛНПкорр<3,0 ммоль/л; (4) Лп(а) ≥30 мг/дл, ХС $ЛНП_{корр}$ ≥3,0 ммоль/л. Б — (1) Лп(а) <30 мг/дл, ХС неЛВП <3,8 ммоль/л; (2) Лп(а) <30 мг/дл, ХС неЛВП ≥3,8 ммоль/л; (3) Лп(а) ≥30 мг/дл, ХС неЛВП <3,8 ммоль/л; (4) Лп(а) ≥30 мг/дл, ХС неЛВП ≥3,8 ммоль/л.

Медиана возраста дебюта ИБС в группе Лп(а) <30 мг/дл составила 56 лет (95% ДИ: 52 – 58), тогда как в группе Лп(а) ≥30 мг/дл - 49 лет (95% ДИ: 47 – 51), p <0,01. Таким образом концентрация Лп(а) ≥30 мг/дл ассоциировалась с на 7 лет более ранним развитием ИБС (рис. 2).

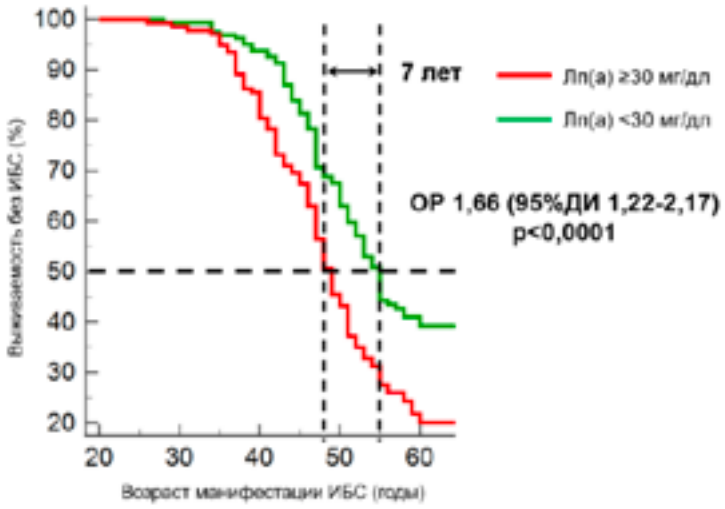


Рисунок 2. Кривые выживаемости Каплана-Мейера без ИБС в зависимости от уровня Лп(а)

По данным логистического регрессионного анализа при введении в модель АГ, ожирения, СД 2 типа и отягощённого семейного анамнеза по ССЗ, мужской пол (ОШ 2,78, (95% ДИ 1,45-5,31), увеличение концентрации ХС ЛНП на 1 ммоль - ХС ЛНП (1,69 (1,28-2,22) и Лп(а) на 10 мг/дл (1,13 (1,05-1,22) были независимыми предикторами раннего развития ИБС.

С помощью ROC-анализа рассчитаны пороговые значения липидных показателей, ассоциированные с ранним развитием ИБС в когорте обследованных пациентов (рис. 3). Сравнение ROC-кривых не выявило достоверной разницы в диагностической ценности модели с использованием ХС ЛНП или ХС неЛВП для раннего развития ИБС.

По данным логистического регрессионного анализа при введении в модель АГ, ожирения, СД 2 типа и отягощённого семейного анамнеза по ССЗ, мужской пол (ОШ 2,78 (95% ДИ 1,45-5,30) увеличение концентрации показателей липидного спектра на 1 ммоль - ХС ЛНП (1,69 (95% ДИ 1,28-2,22), ХС ЛВП (95% ДИ 0,20 (0,09 - 0,44) и увеличение концентрации Лп(а) на 10 мг/дл (95% ДИ 1,13 (1,05-1,22), p <0,05 для всех, были независимыми предикторами раннего развития ИБС. Предсказательная ценность такой модели была высокой (площадь под кривой AUC=0,81) и позволяла точно классифицировать 73% случая.

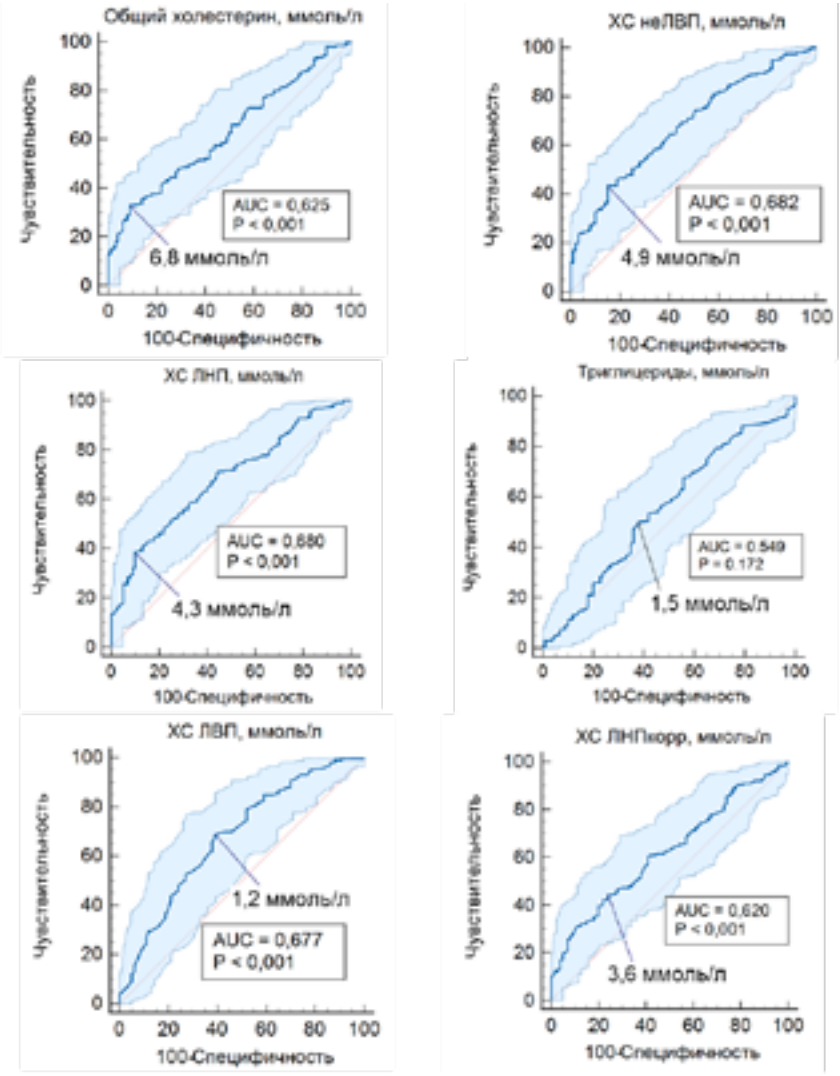


Рисунок 3. Кривые операционных характеристик предсказательной ценности различных показателей липидов для раннего развития ИБС

Обсуждение

В нашей работе в рамках проспективного исследования проанализировано влияние различных форм нарушения липидного обмена на раннее развитие ИБС. Долгое время основное внимание в профилактике ССЗ было сосредоточено на контроле ХС ЛНП. Согласно данным многочисленных рандомизированных клинических испытаний и метаанализов Лп(а) был идентифицирован как независимый фактор риска ССЗ [1-4]. Согласно концепции кумулятивного воздействия, связь Лп(а) с ранней манифестацией ИБС можно продемонстрировать с помощью простого расчёта: например, у 40-летнего человека с Лп(а) 100 мг/дл кумулятивная экспозиция составляет 4000 Лп(а)-лет (уровень Лп(а) × возраст), соответственно он подвержен более высокому риску развития ИБС, чем человек с Лп(а) равным 10 мг/дл, совокупное воздействие которого составляет всего 400 Лп(а)-лет, даже если предположить, что эти пациенты сопоставимы по прочим факторам риска [5]. Это объясняет, почему пожизненное воздействие высокого уровня Лп(а) приводит к ускоренному развитию атеросклероза и возникновению ИБС

примерно на 10 – 20 лет раньше, даже после поправки на классические факторы риска [6]. Эти данные согласуются с результатами нашего исследования, продемонстрировавшего, что у пациентов с концентрацией Лп(а) ≥30 мг/дл ИБС дебютировала на 7 лет раньше, чем у лиц с нормальным уровнем Лп(а). Также в нашей работе показано, что у пациентов с гиперЛп(а) и исходным ХС $ЛНП_{корр}$ <3 ммоль/л ИБС манифестирует раньше на 3 года раньше, чем у лиц с нормальным уровнем Лп(а) и повышенным ХС $ЛНП_{корр}$. Для таких лиц решающее значение имеет определение уровня Лп(а) и в последующем более активные мероприятия по предотвращению сердечно-сосудистых катастроф [7].

Заключение. Уровень Лп(а) ≥30 мг/дл ассоциируется с развитием ИБС на 7 лет раньше, чем у лиц с Лп(а) <30 мг/дл. В то же время, у пациентов с гиперЛп(а) и нормальным уровнем ХС $ЛНП_{корр}$ ИБС манифестирует раньше на 3 года раньше, чем у лиц с нормальным уровнем Лп(а) и повышенным ХС $ЛНП_{корр.}$

ЛИТЕРАТУРА

1. Kronenberg F. Lipoprotein(a) in various conditions: to keep a sense of proportions /Kronenberg F.// Atherosclerosis. – 2014. – V. 234, № 1. – P. 249-51.

2. Kumar P., Swarnkar P., Misra S., Nath M. Lipoprotein (a) level as a risk factor for stroke and its subtype: A systematic review and meta-analysis /Kumar P., Swarnkar P., Misra S., Nath M.// Sci Rep. – 2021. – V. 11, № 1. – P. 15660.

3. Nordestgaard B. G., Chapman M. J., Ray K., Borén J., Andreotti F., Watts G. F. et. al. A. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status /Nordestgaard B. G., Chapman M. J., Ray K., Borén J., Andreotti F., Watts G. F. et. al. // Eur Heart J. – 2010. – V. 31, № 23. – P. 2844-53.

4. Willeit P., Ridker P. M., Nestel P. J., Simes J., Tonkin A. M., Pedersen T. R., Schwartz G. G., Olsson A. G., Colhoun H. M., Kronenberg F., Drechsler C., Wanner C., Mora S., Lesogor A., Tsimikas S. Baseline and on-statin treatment lipoprotein(a) levels for prediction of cardiovascular events: individual patient-data meta-analysis of statin outcome trials /Willeit P., Ridker P. M., Nestel P. J., Simes J., Tonkin A. M., Pedersen T. R., Schwartz G. G., Olsson A. G., Colhoun H. M., Kronenberg F., Drechsler C., Wanner C., Mora S., Lesogor A., Tsimikas S.// Lancet. – 2018. – V. 392, № 10155. – P. 1311-1320.

5. Afshar M., Pilote L., Dufresne L., Engert J. C., Thanassoulis G. Lipoprotein(a) Interactions With Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Other Cardiovascular Risk Factors in Premature Acute Coronary Syndrome (ACS) /Afshar M., Pilote L., Dufresne L., Engert J. C., Thanassoulis G.// J Am Heart Assoc. – 2016. – V. 5, № 4. – P.

6. Bostom A. G., Cupples L. A., Jenner J. L., Ordovas J. M., Seman L. J., Wilson P. W., Schaefer E. J., Castelli W. P. Elevated plasma lipoprotein(a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. A prospective study /Bostom A. G., Cupples L. A., Jenner J. L., Ordovas J. M., Seman L. J., Wilson P. W., Schaefer E. J., Castelli W. P.// Jama. – 1996. – V. 276, № 7. – P. 544-8.

7. Yeang C., Karwatowska-Prokopczuk E., Su F., Dinh B., Xia S., Witztum J. L., Tsimikas S. Effect of Pelacarsen on Lipoprotein(a) Cholesterol and Corrected Low-Density Lipoprotein Cholesterol /Yeang C., Karwatowska-Prokopczuk E., Su F., Dinh B., Xia S., Witztum J. L., Tsimikas S.// J Am Coll Cardiol. – 2022. – V. 79, № 11. – P. 1035-1046.

РОЛЬ БИОМАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Заки З.А. Фашафша*, Д.Г. Гогниева, к.м.н., П.Ш. Чомахидзе, д.м.н. Ф.Ю. Копылов, д.м.н., профессор

Zaki Fashafsha, Daria Gognieva, Petr Chomakhidze, Philipp Kopylov

*e-mail: fashafsha_z_z@staff.sechenov.ru.

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире, второе место занимают онкологические заболевания, которые в 2020 г. унесли почти 10 млн жизней (каждый шестой умерший по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)) [1]. Современные методы диагностики и лечения привели к значительному прогрессу в выявлении и терапии онкологических заболеваний, благодаря новым методам лечения, и, в частности, комбинированной противоопухолевой лекарственной терапии. К сожалению, данные методы лечения не обходятся без риска возникновения кардиологических осложнений.

В кардиоонкологической практике сердечные биомаркеры (натрийуретические пептиды и тропонины) используются для раннего выявления повреждения миокарда ЛЖ, особенно на доклиническом этапе, для подтверждения нарушения функции миокарда, когда визуализирующие методы предоставляют ограниченную или неубедительную информацию. Это позволяет онкологическим больным безопасно продолжать противоопухолевое лечение.

Натрийуретические пептиды (НУП), и, в частности, NT-proBNP в настоящее время являются одними из основных маркеров для диагностики дисфункции миокарда левого желудочка на ранних ее стадиях. NT-proBNP повышается как у пациентов с клинически выраженной дисфункцией левого желудочка, так и у бессимптомных пациентов [2].

Использование НУП играет важную роль в кардиоонкологической практике, они применяются как метод оценки риска перед противоопухолевым лекарственным лечением, а также во время и после лечения для мониторинга ранней кардиотоксичности и скрининга поздних побочных эффектов у онкологических пациентов после завершения лечения с целью оценки прогноза и предотвращения развития хронической сердечной недостаточности (ХСН) [3].

Оценка концентрации НУП играет важную роль в диагностике сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (СНсФВ), повышенная концентрация служит диагностическим критерием диагноза ХСН [4,5]. Однако следует отметить, что причины повышения НУП разные, они бывают как сердечно-сосудистые (сердечная недостаточность, фибрилляция предсердий, тромбоэмболические осложнения, миокардит, кардиомиопатия,

хирургические вмешательства на сердце), так и внекардиальные (пожилой возраст, ишемический инсульт, нарушение функции почек, дисфункция печени, хроническая обструктивная болезнь легких, тяжелые метаболические и гормональные нарушения. Данные причины могут снизить диагностическую точность НУП [3].

Тропонины играют важную роль в диагностике раннего повреждения миокарда. Тропонин I может быть обнаружен при дисфункции миокарда левого желудочка до снижения фракции выброса левого желудочка у пациентов, получавших различные схемы химиотерапии [6].

Учитывая актуальность данной проблемы, было запланировано проспективное, одноцентровое, нерандомизированное, интервенционное, контролируемое исследование на базе онкологического отделения противоопухолевой терапии Университетской клинической больницы № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), целью которого является определение динамики сердечных биомаркеров (натрийуретические пептиды и тропонины) после проведения первого курса противоопухолевой лекарственной лечении.

Материалы и методы

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом (протокол № 34-20 от 09.12.2020г) и зарегистрирован на сайте ClinicalTrials.gov (ID NCT05676606). Все пациенты подписали письменное информированное согласие.

В исследование включались онкологические пациенты старше 18 лет с диагностированными солидными опухолями, перед проведением запланированной адъювантной и неоадъювантной (до 8 недель после оперативного вмешательства) противоопухолевой лекарственной терапией. Не включались пациенты, получавшие лучевую терапию в анамнезе, а также имеющие тяжелую печеночную и/или почечную недостаточность.

Исключение из исследования производилось по желанию пациента, при неудовлетворительном качестве эхокардиографии (ЭхоКГ), а также при некомплаентности пациента (несвоевременная сдача или отказ от сдачи контрольных анализов и/или инструментальных методов исследований (ЭхоКГ)), а также непереносимости противоопухолевой лекарственной терапии по внесердечной причине. До проведения первого курса противоопухолевой лекарственной терапии и через 14-21 день после включения, перед началом второго курса противоопухолевой лекарственной терапии проводилось клиническое обследование пациентов, регистрация 12-канальной стандартной ЭКГ в покое, ЭхоКГ, забор образцов венозной крови для определения биохимических кардиоспецифических показателей (натрийуретический пептид (NT-proBNP), высокочувствительный тропонин I). Выявлялись

признаки патологии сердечно-сосудистой системы до начала первого курса химиотерапии и далее с целью оценки влияния химиотерапии на указанные показатели.

Уровни NT-proBNP и высокочувствительного тропонина I были определены методом хемилюминесцентного иммуноферментного анализа. Референсные значения биохимических анализов крови были следующими: для мужчин – более 34,2 пг/мл, для женщин – более 15,6 пг/мл, для лиц любого пола NT-proBNP >125пг/мл.

Трансторакальная эхокардиография проводилось по стандартному протоколу на сканере General Electric Vivid 7, двумя независимыми врачами функциональной диагностики. Оценивались: фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) по методу Симпсона, с применением методики BIPLANE из 4-х и 2-х камерной апикальных позиций, абсолютное снижение ФВ ЛЖ ≥ 10% от исходной считалось значимым для определения кардиотоксичности; глобальная деформации миокарда левого желудочка (GLS), оценивалась методом Speckle Tracking (GLS – global longitude strain), снижение глобальной деформации миокарда ЛЖ GLS > 15% считалось значимым для определения кардиотоксичности; диастолическая дисфункция миокарда левого желудочка (ДД ЛЖ).

Статистическая обработка данных

Статистическая выполнена с помощью языка программирования R v4.2.

Для количественных показателей определялся характер распределения (с помощью теста Шапиро-Уилка), среднее значение, стандартное отклонение, медиана, межквартильный, 95% доверительный интервал, минимальное и максимальное значения. Для категориальных и качественных признаков определялась доля и абсолютное количество значений.

Сравнительный анализ для нормально распределенных количественных признаков проводился на основании t-теста Уэлча (2 группы); для ненормально распределенных количественных признаков – с помощью U-критерия Манна-Уитни (2 группы). Сравнительный анализ категориальных и качественных признаков проведен с использованием критерия χ −квадрат Пирсона, в случае его неприменимости – с помощью точного теста Фишера.

Для оценки влияния факторов на интересующие конечные точки использовался регрессионный анализ с построением уравнений с одним фактором (логистическая регрессия с расчетом отношения шансов, ОШ (Odds Ratio, OR), и его 95% ДИ). Значимые факторы (значимость при однофакторном регрессионном анализе $p \leq 0,1$) были включены в единое уравнение многомерной регрессии для поиска независимых предикторов конечной точки с помощью пошаговой процедуры отбора (stepwise selection). Уровень значимости при проведении сравнительного и регрессионного анализа соответствовал 0,05.

Результаты

На начальном этапе в исследование было включено 162 пациента, в дальнейшем 40 пациентов были исключены по различным причинам. Финальный объем выборки составил 122 пациента. Подробная клиническая характеристика представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов до начала полихимиотерапии (n = 122)

Параметры	**Количество (n, %)**
Возраст	60,4 ± 11,6
Пол • Женский • Мужской	 65 (53,3%) 57 (46,7%)
Курение	54 (44,3%)
Индекс массы тела (кг/м^2) • < 18 • 18-25 • 25-30 • 30-35 • 35-40	 3 (2,5%) 35 (28,7%) 57 (46,7%) 25 (20,5%) 2 (1,6%)
Уровень глюкозы крови натощак, ммоль\л	5,6 ± 0,9
Уровень калия крови, ммоль\л	4,5 ± 0,4
Уровень креатинина, мкмоль\л	86,4 ± 31,2
Уровень тропонина I, пг/мл	3,0 ± 2,9
Уровень NT-proBNP, пг/мл	175,2 ± 236,8
Сердечно-сосудистые заболевнаия в анамнезе: ● Гипертоническая болезнь; ● Ищемическая болезнь сердца или ее эквиваленты (постинфарктный кардиосклероз, аортокоронарное шунтироване, чрескожное коронарное вмешательство, атеросклеротическая болезнь сердца).	 59 (48,4%) 31 (25,4%)
Сахарный диабет	14 (11,5%)

Локализация опухолевого процесса была представлена следующими областями: головы и шеи – 16 (13,12%), пищевода – 4 (3,3%), желудка – 16 (13,1%), кишечника – 26 (21,3%), легких – 10 (8,2%), саркома мягких тканей – 1 (0,82%), мочевого пузыря –10 (8,2%), почек – 1 (0,82%) пациент, поджелудочной железы – 7 (5,7%), молочной железы – 23 (18,86%), яичников – 8 (6,56%).

Использовались режимы противоопухолевой лекарственной терапии, перечисленные ниже: FOLFOX (Оксалиплатин + 5-фторурацил) у 14 (11,5%), XELOX (Оксалиплатин + Капецитабин)

у 16 (13,1%), TPF (Доцетаксел + Цисплатин + 5-фторурацил) у 19 (15,2%), PC (Паклитаксел + Карбоплатин) у 15 (12,3%), AC (Доксорубицин + Циклофосфамид) у 20 (16,4%), GemCis-4 (3.3%), FLOT (Доцетаксел + Оксалиплатин + 5-фторурацил) у 10 (8,2%), FOLFIRINOX (Оксалиплатин + Иринотекан + 5-фторурацил) у 7 (5,7%), EP (Этопозид + Цисплатин) у 3 (2,5%), GemCarbo (Гемцитабин+ Карбоплатин) у 8 (6,6%), FOLFIRI (Иринотекан + 5-фторурацил) у 1 (0,8%), AI (Доксорубицин + Ифосфамид) у 4 (3,3%), таргетная терапия в моно-режиме (0,82%) + (2,46% в комбинациях с полихиотерапией). Дозы препаратов подбирались индивидуально для каждого пациента.

Параметры ЭхоКГ до и после проведения первого курса химиотерапии

- ФВ ЛЖ (%) – 62,9 ± 4,0 до, против 59,7 ± 4,4 после химиотерапии, p<0,01.
- GLS (%) – 20,5 ± 1,9 до, против 18,7 ± 2,2 после химиотерапии, p<0,01.
- ДД ЛЖ (n, %) – у 26 (21,3%) пациентов до, против 57 (46,7%) после химиотерапии, p<0,001.

Результаты биохимических анализов крови

У 84 (68,9%) пациентов обнаружено увлечение показателей NT-proBNP более 125 пг\мл в период после ПХТ. Учитывая, что значения NT-proBNP до начала химиотерапии были повышены (>125 пг/мл), а именно у 48 (39,3%) пациентов, было принято решение провести три расчета показателей NT-proBNP:

- Группа пациентов со значением NT-proBNP более 125 пг/мл в период после ПХТ;
- Группа пациентов с увлечением значений NT-proBNP на 50% и более в период после ПХТ;
- Группа пациентов с увлечением значений NT-proBNP на 100% и более в период после ПХТ.

Сравнительный анализ группы пациентов с повышением значением NT-proBNP более 125 пг\мл в период после ПХТ представлен в таблице 2.

Таблица 2. Сравнительный анализ группы пациентов с уровнем NT-proBNP более 125 пг\мл, в период после химиотерапии

Параметры	**NT-proBNP > 125 пг\мл (n=84)**	**NT-proBNP < 125 пг\мл (n=38)**	**Значение p**
Пол, мужской	40 (47,6%)	17 (44,7%)	0,768
Возраст	61,9 ± 11.3	57,0 ± 11.6	<0,038

Продолжительность интервала QTc до химиотерапии, мс	427,8 ± 23,6	417,7 ± 19,6	0,015
Продолжительность интервала QTc после химиотерапии, мс	450,8 ± 29,4	433,0 ± 25,4	<0,001
Значение ФВ ЛЖ в периоде после химиотерапии, %	59,0 ± 4,7	61,1 ± 3,2	0,043
Снижение значений ФВ ЛЖ в периоде после химиотерапии, % (дельта)	6,3 ± 3,9	2,5 ± 2,7	<0,001
Значение GLS в периоде после химиотерапии, %	18,3 ± 2,2	19,6 ± 1,8	<0,001
Снижение значений GLS в периоде после химиотерапии, % (дельта)	10,7 ± 5,7	4,7 ± 4,5	<0,001
Наличие ДД ЛЖ в периоде до химиотерапии	22 (26,2%)	4 (10,5%)	0,050
Наличие ДД ЛЖ в периоде после химиотерапии	51 (60.7%)	6 (15.8%)	<0.001
Использование химиопрепарата (5-фторурацил)	41 (48,8%)	9 (23,7%)	<0,01
Использование химиопрепарата (Цисплатин)	22 (26,2%)	4 (10,5%)	0,05

Обращает на себя внимание, нарушение диастолической функции ЛЖ у 51 (60,7%) пациентов в период после ПХТ, в группе пациентов с увеличенным уровнем NT-proBNP > 125 пг/мл, где до ПХТ было нарушение диастолической функции ЛЖ только у 22 (26,2%) пациентов. То есть нарушение диастолической функции ЛЖ выявлено у 29 (34,5%) пациентов в периоде после ПХТ в данной группе.

Однако, нарушение диастолической функции ЛЖ второй группы, где нет увлечения значений NT-proBNP более 125 пг/мл в период после ПХТ впервые выявлено только у 2 пациентов (5,2%).

По результатам построенной многомерной модели, независимым фактором увеличения NT-proBNP более 125 пг\мл в периоде после ПХТ оказалось использование химиопрепарата (5-фторурацила) (ОШ 3,63 при 2,5-97,5% ДИ (1,28-11,2), p=0,01).

Группа пациентов с 50% увлечением значений NT-proBNP в период после ПХТ

У 69 (56,5%) пациентов выявлено увеличение показателей NT-proBNP на 50% и более в период после ПХТ. Сравнительный анализ данной группы приведен в таблице 3.

Таблица 3. Сравнительный анализ группы пациентов с 50% увлечением значений NT-proBNP в период после ПХТ

Параметры	**Группа пациентов с увеличением NT-proBNP более 50% (n=69)**	**Группа пациентов с увеличением NT-proBNP < 50% пг\мл (n=53)**	**Значение p**
Пол, мужской	31 (44,9%)	26 (49,1%)	0,650
Возраст	60,7 ± 12,0	60,0 ± 11,3	0,901
Значение GLS в периоде после ПХТ, %	18,3 ± 2,2	19,4 ± 2,0	0,005
Снижение значений GLS в периоде после ПХТ, %	11,0 ± 5,7	5,9 ± 5,3	<0,001
Снижение значений ФВ ЛЖ в периоде после ПХТ, %	6,3 ± 4,1	3,5 ± 3,1	<0,001
Наличие ДД-ЭхоКГ в периоде после ПХТ	38 (55,1%)	19 (35,8%)	0,035
Уровень NT-proBNP в периоде после ПХТ, пг/мл	572,5 ± 1,395	252,3 ± 409,3	<0,001

Обращает на себя внимание, нарушение диастолической функции ЛЖ у 38 (55,1%) пациентов данной группы в период после ПХТ, где до ПХТ было нарушение диастолической функции ЛЖ только у 15(21,7%) пациентов. То есть, нарушение диастолической функции ЛЖ впервые выявлено у 23 (33,3%) пациентов в период после ПХТ в данной группе.

По результатам построенной многомерной модели, увеличение показателей NT-proBNP на 50% и более было независимым предиктором снижения глобальной деформации миокарда левого желудочка (ОШ 1,3 при 2,5-97,5% ДИ (1,16-1,5), p <0,001).

Группа пациентов с 100 % увлечением значений NT-proBNP в периоде после ПХТ

У 41(33,6%) пациентов выявлено увлечение показателей NT-proBNP на 100% и более в период после ПХТ лечения. Сравнительный анализ данной группы приведен в таблице 4.

Таблица 4. Сравнительный анализ группы пациентов с 100% увеличением значений NT-proBNP в период после ПХТ

Параметры, единицы измерения	**Увеличение NT-proBNP >100% (n=57)**	**NT-proBNP <100% пг\мл (n=81)**	**Значение p**
Пол, мужской	20 (48,8%)	37 (45,7%)	0,746
Возраст	60,7 ± 10,4	60,2 ± 12,3	0,726
Уровень NT-proBNP в период после ПХТ, пг/мл	784,1 ± 1,778	255,9 ± 354,1	<0,001
Значение GLS в период после ПХТ, %	17,9 ± 2,3	19,1 ± 2,0	0,006
Уровень креатинина крови в период после ПХТ, мкмколь\л	91,2 ± 32,8	80,1 ± 20,3	0,031
Применение химиопрепарата 5-фторурацил	24 (58,5%)	26 (32,1%)	0,005
Применение химиопрепарата доцетаксел	16 (39,0%)	13 (16,0%)	0,005
Применение химиопрепарата цисплатин	13 (31,7%)	13 (16,0%)	0,046
Локализация патологии в области головы и шеи	9 (22,0%)	7 (8,6%)	0,040
Режим ПХТ – TPF	11 (26,8%)	8 (9,9%)	0,015
Снижение значений GLS в периоде после ПХТ, %	12,8 ± 5,8	6,8 ± 5,1	<0,001
Снижение значений ФВ ЛЖ в периоде после ПХТ, %	7,4 ± 4,5	3,9 ± 3,0	<0,001

При проведении сравнительного анализа группы пациентов с увлечением NT-proBNP >100%, обращают на себя внимание, статически достоверные различия у пациентов с раком головы и шеи, у тех, у кого применялся режим ПХТ – TPF, а также у кого в схемах ПХТ использовались химиопрепараты: 5-фторацил, доцетаксел, цисплатин ($p<0,01$).

По результатам построенной многомерной модели, увеличение показателей NT-proBNP на 100% и более было независимым предиктором снижения глобальной деформации миокарда левого желудочка (ОШ 1,33 при 2,5-97,5% ДИ (1,21-1,53), $p<0,001$).

Результаты статической обработки данных группы пациентов с повышением уровня тропинина I в период после ПХТ

У 4 (3,3%) пациентов выявлено увеличение тропонина I в период после ПХТ.

По данным однофакторного регрессионного и многофакторного анализов достоверных значимых влияний на увеличение уровня тропинина I в период после первого курса противоопухолевой лекарственной терапии не было получено.

Обсуждение

Проведенное исследование отражает риск нарушения диастолической и систолической функции миокарда левого желудочка после проведения первого курса противоопухолевой лекарственной терапии в реальной клинической практике.

По полученным результатам уровень NT-proBNP был независимым предиктором развития диастолической дисфункции миокарда левого желудочка, а также, предиктором снижения глобальной деформации миокарда левого желудочка после проведения первого курса химиотерапии.

Данный факт доказывает важность определения уровня NT-proBNP в период после первого курса двух- и трёхкомпонентных химиотерапий.

В мировой литературе широко описана ценность NT-proBNP в определении дисфункции миокарда. Так, в рекомендациях Европейского общества кардиологов (2022 г.), описаны сроки определения динамики NT-proBNP при лечении отдельными группами химиоперапартов [7], однако, данных о необходимости назначения данного маркера онкологическим пациентам после проведения первого курса двух- и трёхкомпонентной химиотерапии нет.

Вывод

Использование двух- и трёхкомпонентных режимов химиотерапии чревато повышенным риском нарушений систолической и диастолической функций миокарда на ранних сроках лечения. Определение NT-proBNP до начала первого и второго курса противоопухолевой лекарственной терапии может быть рассмотрено в качестве метода ранней диагностики миокардиальной дисфункции, наряду с другими методами исследований (эхокардиография, электрокардиография, определение тропонина I и др.). Предложенная тактика определения NT-proBNP может снизить потенциальный риск развития сердечной недостаточности, вызванной проведением противоопухолевой лекарственной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO.inet [электронный ресурс]. Центр СМИ/Информационные бюллетени/ Подробнее/Рак. — URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer. Дата обращения: 28.01.2024.

2. NT-proBNP: a new diagnostic screening tool to differentiate between patients with normal and reduced left ventricular systolic function / M. Bay, V. Kirk, J. Parner, [et al.] // Heart. - 2003. - Vol. 89(2). – P. 150–154.

3. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations / C. Mueller, K. McDonald, R.A. de Boer, [et al.] // European Journal of Heart Failure. – 2019. – Vol. 21(6). – P. 715-731.

4. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure / T.A. McDonagh, M. Metra, M. Adamo, [et al.] // European heart journal. – 2021. – Vol. 42(36). – P. 3599-3726.

5. N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure / R.S. Gardner, F. Ozalp, A.J. Murday, [et al.] // European heart journal. – 2003. – Vol. 24(19). – P. 1735-1743.

6. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy / D. Cardinale, M.T. Sandri, A. Martinoni, [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2000. – Vol. 36(2). – P. 517-522.

7. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS) / A.R. Lyon, T. López-Fernández, L.S. Couch [et al.] // European heart journal. – 2022. – Т. 43. – №. 41(41). – С. 4229-4361.

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ АНЕВРИЗМЫ БРЮШНОГО ОТДЕЛА АОРТЫ С УЧЕТОМ ГЕНДЕРНЫХ АСПЕКТОВ, КРАТКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Н.А. Черных (Nikolay Aleksandrovich Chernykh)

ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Введение

Инвалидизация и смертность, обусловленные заболеваниями сердечно-сосудистой системы (ССС), преимущественно связаны с атеросклеротическими поражениями сосудов, проявляющимися в форме окклюзионно-стенотических или аневризматических процессов. Примером подобного состояния является аневризма брюшного отдела аорты (АБА). Согласно международным и национальным рекомендациям сформулировано определение АБА: «Аневризмой брюшного отдела аорты называется расширение аорты более 3 см или расширение в 1,5 раза превышающее диаметр нерасширенного участка брюшного отдела аорты.» [1, 2].

Этот патологический процесс возникает в результате непрерывного разрушения структурных компонентов сосудистой стенки [3]. Распространенность данного заболевания в высокоразвитых странах колеблется в диапазоне от 2% до 8% населения [4]. Установлено, что аневризма брюшного отдела аорты (АБА) выявляется у 1,4% людей старше 50 лет [5]. Приведенную патологию преимущественно рассматривают как мужскую, поскольку частота ее проявления среди мужчин составляет от 3,9% до 7,2%, в то время как среди женщин диапазон колеблется от 1,0% до 1,3% [6].

Согласно определенным данным, установлено, что существует зависимость между возрастом и распространенностью АБА с учетом пола. Отмечено, что пик проявления у мужчин приходится на возраст 60 лет и составляет 5,9%, в то время как у женщин этот пик приходится на более старшую возрастную группу и составляет 4,9%. Таким образом, женщины, в основном, подвержены данному заболеванию в более пожилом возрасте [7].

Факторы, предрасполагающие к развитию аневризмы брюшного отдела аорты (АБА), включают в себя такие параметры, как возраст, пол, расовая принадлежность, наличие длительного курения в анамнезе, артериальная гипертензия и наличие семейного анамнеза по данному заболеванию [5]. В естественном ходе болезни отмечается экспоненциальное увеличение смертности в зависимости от размеров аневризматического расширения аорты. В течение года риск разрыва аневризмы принимает следующие значения: при размере 5-6 см – от 3% до 15%, при размере 6-7 см – от 10% до 20%, при размере 7-8 см – от 20% до 40%, а при размере более 8 см – от 30% до 50% % [6, 8].

По данным литературы мужской пол является более выраженным фактором риска разрывов аневризм брюшной аорты – частота разрыва аневризм у мужчин в 3 раза выше, чем у женщин. Но в то же время многие исследования показывают, что у женщин прогрессирование отсрочено, и также отмечено, что в возрасте старше 76 лет, при диаметре в 40 мм происходит значительно быстрее прирост диаметра, чем у мужчин (рис. 1) [9, 10]. И если говорить о так называемых малых аневризмах брюшной аорты, когда диаметр аневризмы не превышает 5 см, то при этих «Малых» аневризмах частота разрыва чувствительно выше у женщин – в 4 раза (рис. 2) [11, 12]. И если учесть, что у женщин АБА преимущественно малого размера, то соответственно показания для операции у них (при малых аневризмах) должны выставляться более приоритетно, чем у мужчин.

Материал и результаты исследования

Проведен анализ результатов хирургического лечения 416 пациентов, включая 384 (92,3%) мужчин и 32 (7,7%) женщины. Следует отметить, что возраст женской группы был старше, средний возраст составил 69±7,8 лет, в сравнении с мужской группой, где средний возраст составил 66,3±5,4 лет ($p<0,05$). Неоспоримо, что заболевание протекало асимптомно в большей степени среди женщин, а именно 56,2% (n=18), по сравнению с 40,6% (n=156) у мужчин ($p>0,05$).При дальнейшем анализе антропометрических данных выявлено, что средний вес и рост мужчин превышали соответствующие параметры у женщин (средний вес 86,6 кг против 74,8 кг ($p>0,05$), средний рост 175,8 см против 162 см ($p>0,05$)). Важно отметить, что индекс массы тела (ИМТ) был выше у женщин, составляя 28,5 кг/м^2 по сравнению с 27,6 кг/м^2 у мужчин ($p>0,05$). Таким образом, следует отметить, что у женщин более часто наблюдалось избыточность массы тела (табл. 1).

Характеристика анатомии аневризматического расширения брюшного отдела аорты и подвздошных артерий, полученная в результате инструментальных исследований (ультразвуковое исследование, мультиспиральная компьютерная томография и ангиография), представляет собой важные аспекты морфологии данного патологического состояния. Согласно данным измерений, диаметр аневризмы в брюшном отделе аорты у женщин составил (M±SD) 60(±9) мм, в то время как у мужчин он был равен 62,3(±11,8) мм ($p<0,05$). Ангуляция хирургической шейки инфраренального отдела аорты более 60° подтверждена в большинстве случаев у женщин – 28,1% (n=9), в сравнении с 8,8% (n=34) у мужчин ($p<0,05$). Также установлено, что диаметр общей подвздошной артерии (ОПА) менее 6 мм преимущественно характерен для группы женщин – 59,4% (n=19), в сравнении с 30,7% (n=118) у мужчин ($p<0,05$) (табл. 2).

Эти анатомические особенности играют существенную роль в клинической картине аневризмы брюшного отдела аорты и, таким образом, требуют дифференцированного подхода к лечению и управлению данным заболеванием в зависимости от пола пациентов.

Также в связи с анатомическими особенностями, была выявлена необходимость в наложении проксимального зажима на аорту в супраренальном отделе, чаще в женской группе 25% ($p<0,05$). В данных условиях возникала необходимость в выполнении холодовой почечной перфузии у женщин 9,4% ($p<0,05$). В результате атеросклеротического поражения дистального артериального русла у женщин, чаще чем у мужчин, операция завершалась реконструкцией подвздошных артерий. В интраоперационном и раннем послеоперационном периодах аутогемотрансфузия чаще проводилась женщинам – в 40,6% ($p<0,05$). Время оперативного вмешательства было длительнее в подгруппе женщин 4,0(±1,3) часа.

В ряде случаев у женщин выполнение процедуры EVAR было затруднено в следствии трудности с обеспечением доступа для постановки системы Стент-графт: малый диаметр подвздошных и бедренных сосудов (< 6 мм) – 59 %, окклюзии подвздошно-бедренного сегмента – 3 %, извитость – 14 %, кальциноз – 7 %. Также неблагоприятная проксимальная шейка ограничивала возможность правильной фиксации данной системы: короткая хирургическая шейка (<15 мм) – 19 %, форма шейки в виде обратного конуса – 34 %, кальциноз – 15 %, тромбоз – 8 %, выраженная ангуляция – 28 %.

В раннем послеоперационном периоде были зафиксированы возникшие случаи осложнений. Общее их количество составило n=31, что составило 7,5%, из них среди женщин 12,5%, мужчин 7,3%. В когорте мужчин выявлены: лимфорея в 0,52% случаях; тромбоэмболия дистального артериального русла 2,34%; Острая сердечная недостаточность 1,5%. Напротив, в группе женщин выявлено преобладание: дыхательной недостаточности 6,3%; острого нарушения мозгового кровообращения 3,1%; кровотечение 3,1%. Время искусственной вентиляции легких у мужчин было дольше 16(±5,2) часов, напротив нахождение в стационаре (в днях) преобладало среди женщин 10,4(±3,5).

При однофакторном анализе 30-дневная летальность была выше среди женщин 6,2%, против 1,3% в группе мужчин. В процессе проведения многофакторного регрессионного анализа у женщин было отмечено двукратное увеличение шансов летального исхода в течение раннего послеоперационного периода (ОШ 1,9, 95% ДИ 1,2-25,1, $p<0,05$). В большинстве рассмотренных случаев внутрибольничных осложнений, не отмечалось значимых различий, кроме как острого нарушения мозгового кровообращения у женщин. Подтверждено пятикратное увеличение шансов развития данного состояния в раннем п/о периоде (рис. 3).

Заключение

У женщин выявлена более сложная анатомия аневризматического расширения брюшного отдела аорты, характеризующаяся меньшим диаметром аорты, преимущественно короткой проксимальной хирургической шейкой аневризмы и более выраженной ее ангуляцией. Это, в свою очередь, предрасполагает к повышенному риску осложнений после открытых реконструктивных операций и ограничивает применение эндоваскулярной реконструкции (EVAR). Также данная группа характеризуется более высокой частотой осложнений и ранней послеоперационной смертности. Это объясняется их старшей возрастной группой, наличием трудно контролируемой медикаментозно артериальной гипертензии, анамнезом нефатального инсульта и частым пережатием аорты выше почечных артерий. У мужчин, в свою очередь, с аневризмой брюшной аорты (АБА) чаще выявляются поражения других артериальных бассейнов, в частности коронарного русла и нижних конечностей, а также анамнез нефатального инфаркта миокарда и хронической ишемической болезни сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашер, Э. Сосудистая хирургия по Хаймовичу в 2 т / Э. Ашер. Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 652 с. – ISBN 978-5-9963-1357-0. – EDN SUMTSH..

2. Клинические рекомендации. Аневризмы брюшной аорты. – Текст : электронный. — URL: https://www.angiolsurgery.org/library/recommendations/2022/aneurysm/ (дата обращения: 22.11.2023).

3. Baikova A., Bedrov A., Moiseev A., Baykov V. Gender based differences in histopathology of abdominal aorta in patients with abdominal aortic aneurysm and aortoiliac occlusive disease // The Scientific Notes of the Pavlov University. — 2022. — T. 29. — C. 106-117.

4. Guirguis-Blake J.M., Beil T.L., Senger C.A., Whitlock E.P. Ultrasonography screening for abdominal aortic aneurysms: a systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force // Annals of Internal Medicine. — 2014. — T. 160. — Ultrasonography screening for abdominal aortic aneurysms. — № 5. — C. 321-329.

5. Kent K.C., Zwolak R.M., Egorova N.N., Riles T.S., Manganaro A., Moskowitz A.J., Gelijns A.C., Greco G. Analysis of risk factors for abdominal aortic aneurysm in a cohort of more than 3 million individuals // Journal of Vascular Surgery. — 2010. — Vol. 52. — No. 3. — P. 539-548.

6. Brewster D.C., Cronenwett J.L., Hallett J.W., Johnston K.W., Krupski W.C., Matsumura J.S., Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms. Report of a subcommittee of the Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery // Journal

of Vascular Surgery. — 2003. — T. 37. — № 5. — C. 1106-1117.

7. Ilyas S., Stone D.H., Kang J., Cooper M.A., Columbo J.A., Huber T.S., Suckow B.D., Goodney P.P., Scali S.T. Non-guideline-compliant endovascular abdominal aortic aneurysm repair in women is associated with increased mortality and reintervention compared with men // Journal of Vascular Surgery. — 2022. — T. 75. — № 1. — C. 118-125.e1.

8. Mansouri M., Therasse E., Montagnon E., Zhan Y.O., Lessard S., Roy A., Boucher L.-M., Steinmetz O., Aslan E., Tang A., Chartrand-Lefebvre C., Soulez G. CT analysis of aortic calcifications to predict abdominal aortic aneurysm rupture // European Radiology. — 2023.

9. Ulug P., Powell J.T., Martinez M.A.-M., Ballard D.J., Filardo G. Surgery for small asymptomatic abdominal aortic aneurysms // The Cochrane Database of Systematic Reviews. — 2020. — T. 7. — № 7. — C. CD001835.

10. Solberg S., Singh K., Wilsgaard T., Jacobsen B.K. Increased growth rate of abdominal aortic aneurysms in women. The Tromsø study // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery. — 2005. — T. 29. — № 2. — C. 145-149.

11. Brown L.C., Powell J.T. Risk factors for aneurysm rupture in patients kept under ultrasound surveillance. UK Small Aneurysm Trial Participants // Annals of Surgery. — 1999. — T. 230. — № 3. — C. 289-296; discussion 296-297.

12. Kindon A.J., McCombie A.M., Frampton C., Khashram M., Clarke G., Roake J. Early Relative Growth Rate of Abdominal Aortic Aneurysms and Future Risk of Rupture or Repair // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. — 2023. — T. 66. — № 6. — C. 797-803.

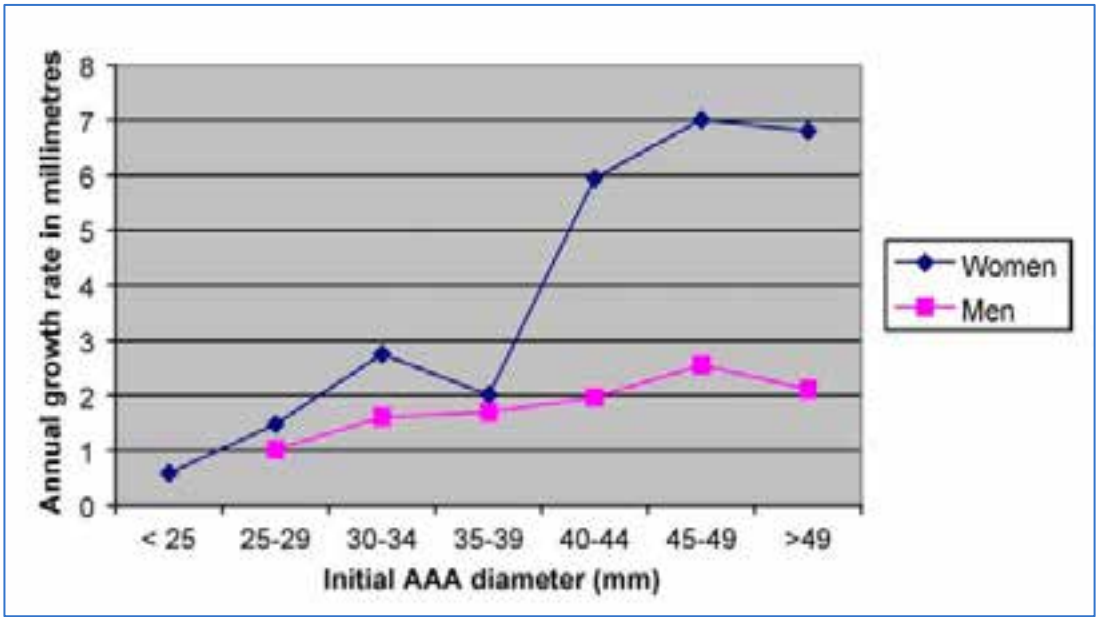


Рисунок 1. За темпом роста АБА у 49 женщин и 185 мужчин следили в течение 90 мес. При регрессионном анализе исходный диаметр АБА и женский пол предсказывали скорость роста ($p<0,001$)

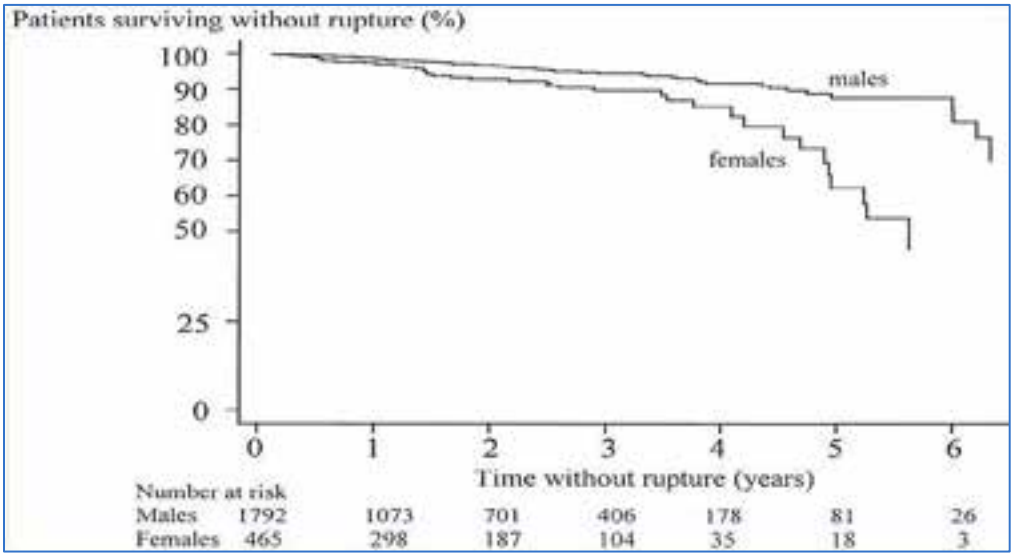


Рисунок 2. Общая выживаемость без разрыва АБА в зависимости от пола. Кривая Каплана-Майера

Таблица 1. Демографическая характеристика и анамнестические данные о сопутствующей патологии в группах пациентов (n=416)

	Женщины n=32 (7,7%)	**Мужчины n=384(92,3%)**	**p**	**Всего n=416 (100%)**
Возраст (год ±)	69 ±7,8	66,3±5,4	**<0,05**	66,6±5,7
Вес (кг) M±SD	74,8±9,3	86,6±13	>0,05	85,5
Рост (см) M±SD	162±4,9	175,8±5,1	>0,05	174,7
ИМТ (кг/м^2)	28,5	27,6	>0,05	27,6
Клиника				
Симптомные	14 (43,7)	228 (59,4)	>0,05	242 (58,2)
Асимптомные	18 (56,2)	156 (40,6)	>0,05	174 (41,8)
Курение	13 (40,6)	264 (68,7)	**<0,05**	277 (66,5)
Гиперлипидемия	10 (31,1)	137 (35,7)	>0,05	147 (35,3)
Сопут. заболевания:				
Стенокардия	13 (40,6)	189 (49,2)	>0,05	202(48,6)
Сахарный диабет	4 (12,5)	36 (9,4)	>0,05	40 (9,6)
ХБП	4 (12,5)	37 (9,6)	>0,05	41 (9,9)
ХОБЛ	1 (3,1)	53 (13,8)	**<0,05**	54 (13,0)
АГ	31 (96,9)	345 (89,8)	**<0,05**	376 (90,3)
ОНМК	8 (25)	68 (17,7)	>0,05	76 (18,3)
ПИКС	7 (21,9)	168 (43,7)	**<0,05**	175 (42,1)
ХИНК	2 (6,3)	108 (28,1)	**<0,05**	110 (26,4)

Количественные величины представлены как среднее значение (M) и стандартное отклонение (±SD). Различия статистически значимы (p <0,05).

Таблица 2. Характеристика анатомии аневризматического расширения брюшного отдела аорты и подвздошных артерий

Параметры	**Женщины n= 32 (7,7%)**	**Мужчины n=384 (92,3%)**	
Диаметр аневризмы брюшной аорты (мм)M±SD	60(±9)	62,3(±11,8)	<0,05
Ангуляция шейки инфраренальной аневризмы (>60º)	28,1%	8,8%	<0,05
Длина шейки (<15 мм)	18,7%	11,2%	>0,05
Диаметр ОПА (<6мм)	59,4%	30,7%	<0,05
Диаметр шейки (>32 мм)	12,5%	20,3%	>0,05

Количественные величины представлены как среднее значение (M) и стандартное отклонение (±SD). Различия статистически значимы (p <0,05).

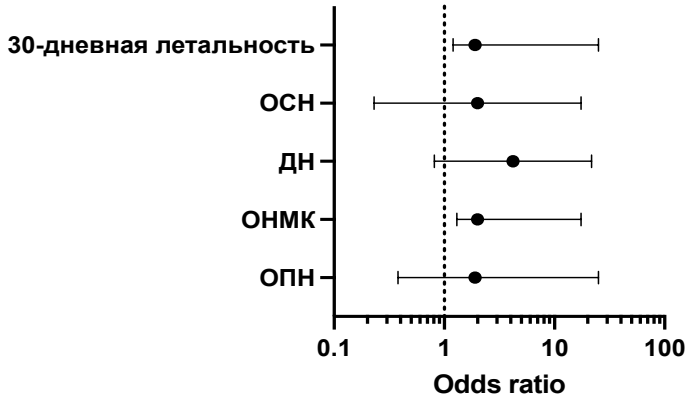


Рисунок 3. Логистический регрессионный анализ смертности и внутрибольничных осложнений

КОМПЛЕКСНАЯ ПРОГРАММА РЕАБИЛИТАЦИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ДИЕТОТЕРАПИИ КАК МЕТОД ПРОФИЛАКТИКИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Н.Н. Шапошникова[2], Ю.Р. Вараева[2], ТВ. Кириченко[1-4], А.В. Стародубова[2-3]

[1]Российский научный центр хирургии им. Академика Б. В. Петровского, 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Клиника питания, Отделение сердечнососудистой патологии и диетотерапии, 115446, г. Москва, Каширское шоссе 21

[3]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

[4]Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

Введение

Всего в 2020 году в Российской Федерации зарегистрировано 1,9 миллиона пациентов с ожирением. По прогнозам экспертов, к 2030 году в мире у 2,2 миллиарда человек будет избыточная масса тела, а 1,1 миллиарда - ожирение. Важными критериями оценки риска ССЗ и их осложнений является показатели индекса массы тела и окружности талии. Распространённость абдоминального ожирения растет во всем мире, за счет нерационального питания и снижения или отсутствия физической активности [1]. За последние годы было получено множество данных, свидетельствующих, что повышение индекса массы тела линейно связано с повышением риска сердечно-сосудистых заболеваний [2].

По данным исследований повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов с одновременным снижением противовоспалительных маркеров рассматривается как один из основных связующих механизмов ожирения, воспаления и эндотелиальной дисфункции [3].

На данный момент нет строго разработанных протоколов реабилитации пациентов с ишемической болезнью сердца и ожирением, а используемые программы не приводят к достижению целевых показателей факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. По данным исследования EUROASPIRE V, каждый пятый (18,5%) российский пациент с ишемической болезнью сердца после перенесенных сердечно-сосудистых событий продолжает курить, у каждого второго (48%) имеется низкий уровень физической активности, у 85,4% - избыточная масса тела, у 46% -

ожирение, у 60,4% - абдоминальное ожирение, у 22% - сахарный диабет 2-го типа [4].

Основной целью исследования является разработка комплексной программы реабилитации для пациентов с ишемической болезнью сердца и ожирением, как метода вторичной профилактики ишемической болезни сердца, и оценка ее влияния на основные показатели факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалы и методы: В исследование были включены 20 пациентов с ожирением со средней массой тела 102,5 кг и средним возрастом 65 лет. Вмешательство длилось 12 недель. Комплексная реабилитационная программа включала низкокалорийный рацион питания, регулярные тренировки на антигравитационной дорожке и коррекцию медикаментозной терапии и факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Производилась оценка показателей состава тела методом биоимпедансометрии, оценка теста 6-минутной ходьбы, а также показателей липидного профиля крови.

Была произведена оценка влияния программы реабилитации на секрецию провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами. Для оценки базальной и ЛПС- стимулированной секреции провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли а, интерлейкина 1, интерлейкина 6 и моноцитарного хемотаксического фактора 1) использовали метод ИФА в первичной культуре моноцитов пациентов, полученных из цельной крови методом градиентного центрифугирования на фиколле с последующей иммуномагнитной сепарацией CD 14+ клеток.

Результаты: при оценке лабораторных показателей значимое снижение продемонстрировали показатели проатерогенного холестерина-ЛПНП. Также наблюдалась тенденция (р 0,054) к снижению 10-летнего риска ССЗ по шкале SCORE на 0,5-1%. Результаты тест 6-минутной ходьбы значимо выросли в среднем на более, чем 60 метров. При оценке динамики показателей композитного состава тела было выявлено значимое снижение массы тела, жировой массы, окружности талии и бедер, а также повышение фитнес-баллов.

Основные результаты представлены в таблице 1.

Значимых изменений уровней секреции фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина -1 и интерлейкина-6 на фоне проводимого вмешательства получено не было. Однако имелась тенденция к снижению базальной секреции и липополисахарид-стимулированной секреции MCP-1.

Выводы: результаты исследования продемонстрировали, что применение комплексной программы реабилитации с включением диетотерапии может приводить к коррекции таких факторов риска прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний, как избыточная масса тела, окружности талии и бедер, нормализации показателей липидного профиля крови и снижению

секреции провоспалительных цитокинов, а значит может быть использована как один из методов вторичной профилактики ишемической болезни сердца у пациентов с ожирением.

Таблица 1. Динамика показателей композиционного состава тела, биохимических показателей крови и моноцитарной секреции провоспалительных цитокинов у пациентов с ишемической болезнью сердца и ожирением на фоне комплексной программы по снижению массы тела

	Участники с ожирением до	Участники с ожирением после	p-value	Δ
Масса тела, кг	102,45 [87,03;114,80]	93,00 [81,08;105,98]	0,001	-6%
ИМТ, кг\м2	36,10 [32,80;43,80]	35,15 [33,00;43,50]	0,004	
Массы скелетной мускулатуры, кг	28,50 [25,00;35,30]	27,40 [23,30;37,10]	0,016	-4%
Жировая масса, кг	44,10 [39,00;60,30]	37,00 [35,25;48,70]	0,006	-8%
Окружность талии, см	110,00 [109,25;116,50]	104,50 [98,50;109,50]	0,001	-7%
Окружность бедер, см	112,50 [108,00;123,50]	109,00 [100,75;114,50]	0,002	
Фитнес-бал	54,50 [48,25;61,25]	60,50 [55,75;65,50]	0,037	+5%
Холестерин-ЛПНП, ммоль/л	2,51 [2,10;3,28]	2,31 [1,93;2,68]	0,019	
Тест 6-минутной ходьбы, м	384	467,5	0,007	
MCP-1 базальная секреция, пг/мл	2038 [1718,5;2903]	1770 [1540,5;2192]	0,196	
MCP-1 ЛПС-стимулированная секреция, пг/мл	23418 [8394,5;50918]	6271 [3961,5;14347]	0,055	

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллоев С. М. и др. Важнейшие аспекты эпидемиологии и факторов риска хронических неинфекционных заболеваний //Здравоохранение Таджикистана. - 2020. - №. 2. - С. 75-87.
2. Yeh T. L. et al. The relationship between metabolically healthy obesity and the risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis //Journal of clinical medicine. - 2019. - Т. 8. - №. 8. - С. 1228. https://doi.org/10.3390/jcm8081228
3. Kwaifa I. K. et al. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: molecular mechanisms and clinical implications //Biomolecules. - 2020. - Т. 10. - №. 2. - С. 291. https ://doi. org /10.33 90/biom 10020291
4. Pogosova N. V. et al. Secondary prevention in patients with coronary artery disease in Russia and Europe: Results from the Russian part of the EUROASPIRE V survey //Cardiovascular Therapy and Prevention. - 2020. - Т. 19. - №. 6. - С. 2739. https://doi.org/10.15829/1728-8800-2020-2739

СЕРДЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА: ДИНАМИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРЕНЕСЕННОЙ COVID-19 ПНЕВМОНИЕЙ В ТЕЧЕНИЕ 2 ЛЕТ НАБЛЮДЕНИЯ

Н.Е. Широков, **Е.И. Ярославская, Д.В. Криночкин, Н.А. Мусихина**

Введение

Авторы консенсуса о сердечно-сосудистых осложнениях COVID-19 (2022 год) ввели термин ‘пост-острые последствия инфекции SARS-CoV-2’ (post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection, PASC), используемый для описания совокупности новых, повторяющихся или постоянных жалоб спустя ≥4 недель после перенесенного заболевания. При этом, выделен PASC, связанный с подтвержденными сердечно-сосудистыми заболеваниями (PASC-cardiovascular disease, CVD) и PASC, ассоциированный с сердечно-сосудистым синдромом (PASC-cardiovascular syndrome, CVS) [1].

PASC-CVS характеризуется отсутствием объективных признаков сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), определенных при помощи стандартных диагностических тестов [1]. Современный метод диагностики - отслеживание движения пятен (speckle tracking echo, STE) при проведении эхокардиографии (ЭхоКГ) - рекомендован для применения в клинической практике [2], но не распространен достаточно широко. При использовании STE уже получено более полное описание ‘поражения миокарда’ - аномалий, возникающих на фоне инфекции SARS-CoV-2, не соответствующих критериям миокардита [1,3]. Поскольку STE нельзя считать традиционным методом, его применение может привести к дальнейшему объяснению PASC-CVS.

Учитывая, что иммунное воспаление, характерное в том числе для COVID-19 [3,4], тесно связано с инициацией и развитием сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) [5], представляется актуальным исследование связи последствий COVID-19 и течения СНсФВ.

Цель: изучить динамику морфофункционального состояния сердца по данным ЭхоКГ в зависимости от СНсФВ у пациентов через 2 года после перенесенной COVID-19 пневмонии.

Материалы и методы

Исследовани проспективное, обсервационное; соответствует стандартам надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и положениям Хельсинкской Декларации. Обследование проведено у пациентов (42,0% мужчин, средний возраст 57,5±7,1 года) через 3 месяца (визит 1) и через 24 месяца (визит 2) после перенесенной COVID-19-пневмонии. Для

проведения диастолического стресс-теста (ДСТ) и инструментального подтверждения СНсФВ согласно диагностическому алгоритму HFA-PEFF [6] из 380 больных, включенных в ‘Проспективный регистр лиц, перенесших COVID-19-ассоциированную пневмонию’ (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622535), отобрано 95 пациентов (на визите 1). Пациенты с отрицательным результатом ДСТ (на визите 2) составили группу I (n=77); пациенты с положительным ДСТ - группу II (n=18). Клинико-функциональная характеристика представлена в таблицах 1-4.

ДСТ в рамках стресс-эхокардиографии с горизонтальной велоэргометрической пробой (стресс-ЭхоКГ с ВЭМП) проведен согласно действующим рекомендациям [6]. Критерием положительного ДСТ считали увеличение E/e′ ≥15 [6]; также учитывали значение деформации фазы резервуара левого предсердия (left atrial reservoir strain, LASr) и диастолический функциональный резерв (diastolic functional reserve, DFRI) [10]. ЭхоКГ была проведена на ультразвуковых аппаратах экспертного класса Vivid E9, Vivid S70; использован матричный датчик M5Sc-D (1,5-4,6 МГц), данные сохранялись в формате DICOM. Обработка изображений, кинопетель, оценка продольной деформации (longitudinal strain, LS) миокарда при помощи метода отслеживания движения пятен (speckle tracking echo, STE) осуществлялась на рабочей станции IntelliSpace Cardiovascular, платформе TomTec (Philips, США) в соответствии с действующими рекомендациями [2].

Результаты

Группы были сопоставимы по основным клиническим и функциональным показателям через 3 месяца после COVID-19-пневмонии, за исключением функционального класса (ФК) сердечной недостаточности (СН) по классификации NYHA и количеству баллов диагностического алгоритма HFA-PEFF - показатели были статистически значимо большими в группе II. При анализе динамики представленных показателей выявлены статистически значимые различия только по баллам HFA-PEFF в обеих группах (таб. 1).

Таблица 1. Клинико-функциональная характеристика

Признак	**Группа I (n=77)**	**Группа II (n=18)**	**P1** (группы I -II)	**P2** (динамика группы I)	**P3** (динамика группы II)
Пол, муж, %	44,2	33,3	Нд	-	-
Возраст, лет	57,0±7,2	60,2±5,9	Нд	-	-
КТ ОГК при госпитализаци, %	56,0 [44,0;68,0]	50,0 [34,0;61,0]	Нд	-	-

ИБС, %	Визит 1	19,5	38,9	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	22,1	47,1	Нд		
ИМ в анамнезе, %	Визит 1	7,8	22,2	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	7,8	22,2	Нд		
АГ, %	Визит 1	88,9	83,3	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	92,2	94,1	Нд		
СД 2 типа, %	Визит 1	11,7	23,5	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	11,7	23,5	Нд		
Ожирение, %	Визит 1	51,9	50,0	Нд	0,016	Нд
	Визит 2	64,7	61,0	Нд		
ИМТ	Визит 1	30,3±4,0	29,8±3,9	Нд	<0,001	Нд
	Визит 2	31,4±4,7	30,4±3,6	Нд		
СН по NYHA I, % II, % III, %	Визит 1	1,3±0,5 70,1 23,9 6,0	1,6±0,7 46,7 40,0 13,3	0,035	Нд	Нд
	Визит 2	1,2±0,4 81,5 18,5 0,0	1,5±0,8 62,5 18,8 18,8	0,012		
HFA-PEFF, балл	Визит 1	2,8±0,9	3,6±1,2	0,004	<0,001	0,007
	Визит 2	1,4±1,1	2,5±1,5	0,001		
NT-proBNP, пг/мл	Визит 1	143,0 [58,1;242,3]	171,2 [47,0;297,0]	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	78,0 [36,8;192,1]#	107,0 [64,4;179,8]	Нд		

Примечание: АГ - артериальная гипертония, ИБС - ишемическая болезнь сердца, ИМ - инфаркт миокарда, ИМТ - индекс массы тела, КТ ОГК - компьютерная томография органов грудной клетки, СД - сахарный диабет, ФК - функциональный класс, СН - сердечная недостаточность; HFA-PEFF - heart failure association score (диагностический алгоритм ассоциации сердечной недостаточности), NT-proBNP - N-terminal pro-brain natriuretic peptide (N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида), NYHA - New York heart association (Нью-Йоркская ассоциация сердца); # - тенденция к статистически значимым различиям.

При анализе динамики представленных показателей было выявлено увеличение ранней диастолической скорости движения фиброзного кольца митрального клапана только в группе I (таб. 2).

Таблица 2. Эхокардиографическая характеристика (традиционный анализ)

Признак		**Группа I (n=77)**	**Группа II (n=18)**	**P1** (группы I -II)	**P2** (динамика группы I)	**P3** (динамика группы II)
Морфологический статус						
КДО ЛЖ, мл	Визит 1	83,0 [70,0;104,5]	76,0 [60,0;95,3]	Нд	0,001	0,006
	Визит 2	89,0 [80,0;107,5]	85,5 [73,8;102,8]	Нд		
Индекс объема ЛП, мл/м2	Визит 1	25,5 [21,1;31,0]	26,4 [20,5;37,8]	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	25,1 [21,1;29,9]	28,9 [24,0;32,9]	0,013		
Функциональный статус						
ФВ ЛЖ, %	Визит 1	69,0 [66,0;72,5]	64,5 [61,0;67,0]	0,003	Нд	0,013
	Визит 2	67,0 [65,0;70,0]	65,5 [64,0;70,0]	Нд		
Градиент ТР, мм рт.ст.	Визит 1	18,7±7,6	20,2±6,1	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	17,6±5,8	17,9±5,5	Нд		
Диастолическая функция						
TDI e' sept, см/с	Визит 1	6,0 [5,0;8,5]	6,0 [5,8;7,0]	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	7,0 [6,0;8,0]	6,0 [5,0;7,0]	0,001		
TDI e' lat, см/с	Визит 1	9,0 [7,5;10,5]	9,0 [7,8;10,3]	Нд	0,001	Нд
	Визит 2	10,0 [8,0;11,0]	8,0 [6,8;9,3]	<0,001		
E/e'	Визит 1	8,9±2,1	10,0±2,5	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	8,0 [7,2;9,9]	9,6 [8,6;11,9]	0,008		

Примечание: ЛЖ - левый желудочек, ЛП - левое предсердие, КДО - конечный диастолический объем, ТР - трикуспидальная регургитация, ФВ - фракция выброса; TDI e' sept - left ventricular annular velocity assessed by tissue Doppler imaging, peak e 'septal (ранняя диастолическая скорость движения септальной части кольца митрального клапана), TDI e 'lat - left ventricular annular velocity assessed by tissue Doppler imaging, peak e 'lateral (ранняя диастолическая скорость движения латеральной части кольца митрального клапана).

При анализе показателей LS на обоих контрольных визитах были выявлены статистически значимые различия по LASr, индексу жесткости левого предсердия (left atrial stiffness index, LASI). При анализе динамики были обнаружены достоверные различия по глобальной продольной деформации ЛЖ (global longitudinal strain, GLS), LS базального и среднего уровней ЛЖ, LASr и LASI только в группе I (таб. 3).

Таблица 3. Эхокардиографическая характеристика (экспертный анализ)

Признак		**Группа I (n=77)**	**Группа II (n=18)**	**P1** (группы I -II)	**P2** (динамика группы I)	**P3** (динамика группы II)
GLS, %	Визит 1	19,2±2,3	19,0±2,5	Нд	0,004	Нд
	Визит 2	20,1±2,3	19,1±2,4	Нд		
LS базального уровня ЛЖ, %	Визит 1	17,5±2,6	16,7±2,4	Нд	<0,001	Нд
	Визит 2	19,0±2,4	17,5±3,5	0,043		
LS среднего уровня ЛЖ, %	Визит 1	19,0±2,1	18,5±2,2	Нд	0,016	Нд
	Визит 2	19,8±2,2	19,3±2,7	Нд		
LS апикального уровня ЛЖ, %	Визит 1	21,4±4,0	22,1±4,9	Нд	Нд	Нд
	Визит 2	21,9±3,5	21,7±3,5	0,835		
LASr, %	Визит 1	29,6 [26,8;33,4]	25,6 [20,0;28,4]	0,002	0,021	Нд
	Визит 2	30,1 [27,8;36,7]	23,8 [20,0;28,8]	<0,001		
LASI	Визит 1	0,30 [0,25;0,38]	0,35 [0,29;0,51]	0,001	0,016	Нд
	Визит 2	0,27 [0,21;0,32]	0,37 [0,30;0,56]	<0,001		
RV FWS, %	Визит 1	22,6±3,3	21,5±2,7	Нд	-	-

Примечание: ЛЖ - левый желудочек, GLS - global longitudinal strain (глобальная продольная деформация), LASr - left atrial reservoir strain (деформация фазы резервуара левого предсердия), LASI - left atrial stiffness index (индекс жесткости левого предсердия), LS - longitudinal strain (продольная деформация), RV FWS - right ventricle free wall strain (деформация свободной стенки правого желудочка).

При анализе показателей, полученных во время проведения ДСТ, были выявлены статистически значимые различия по большинству переменных, характеризующих повышение давления заполнения ЛЖ. Были обнаружены достоверные различия по толерантности больных к физической нагрузке (ФН) и причине преждевременной остановки стресс-ЭхоКГ с ВЭМП (таб. 4).

Таблица 4. Стресс-ЭхоКГ с ВЭМП (визит 2)

Признак	**Группа I (n=77)**	**Группа II (n=18)**	**p**
Пик E, ФН, см/с	108,0 [93,0;116,8]	116,0 [99,0;137,0]	0,013
TDI e’ sept, ФН, см/с	10,0 [9,0;11,0]	8,0 [6,8;8,3]	<0,001
TDI e’ lat, ФН, см/с	12,0 [11,0;13,3]	10,0 [9,0;11,0]	<0,001

E/e’ average, ФН	9,6 [8,2;10,9]	13,4 [12,3;15,3]	<0,001
E/e’ sept, ФН	10,9 [9,5;12,0]	16,0 [13,4;17,7]	<0,001
Градиент ТР ФН, мм рт.ст.	36,0 [24,0;43,0]	41,0 [34,8;48,0]	Нд
DFRI	16,8 [11,3;25,1]	9,3 [7,9;16,4]	0,011
Толерантность к ФН, Ватт	100,0 [75,0;125,0]	75,0 [75,0;75,0]	0,001
Максимальная ЧСС, уд/мин	121,5±15,9	114,0±15,3	Нд
Завершение теста (достижение субмаксимальной ЧСС), %	46,8	22,2	Нд
Причины остановки стресс-теста			
Одышка, %	29,3	85,7	<0,001
Мышечная усталость, %	61,0	35,7	Нд

Примечание: ВЭМП - велоэргометрическая проба, ТР - трикуспидальная регургитация, ФН - физическая нагрузка, ЧСС - частота сердечных сокращений; DFRI - диастолический функциональный резерв (diastolic functional reserve), E/e’ average - усредненное отношение ранней диастолической скорости траснмитрального потока к ранней диастолической скорости движения фиброзного кольца митрального клапана; TDI e’ sept - left ventricular annular velocity assessed by tissue Doppler imaging, peak e’ septal (ранняя диастолическая скорость движения септальной части кольца митрального клапана), TDI e’ lat - left ventricular annular velocity assessed by tissue Doppler imaging, peak e’ lateral (ранняя диастолическая скорость движения латеральной части кольца митрального клапана).

При проведении логистической регрессии с включением в анализ характеристик, статистически значимо различавшихся между группами I и II на визите 1, только LASr (ОШ 0,832; 95% ДИ: 0,733 -0,945; p=0,005) был независимо связан с положительным ДСТ на визите 2. При проведении ROC-анализа чувствительность и специфичность этой модели составили 70,6% и 71,2%, соответственно. Площадь под кривой была равна 0,753; p=0,002, что соответствует отличному качеству предсказательной модели (рис. 1).

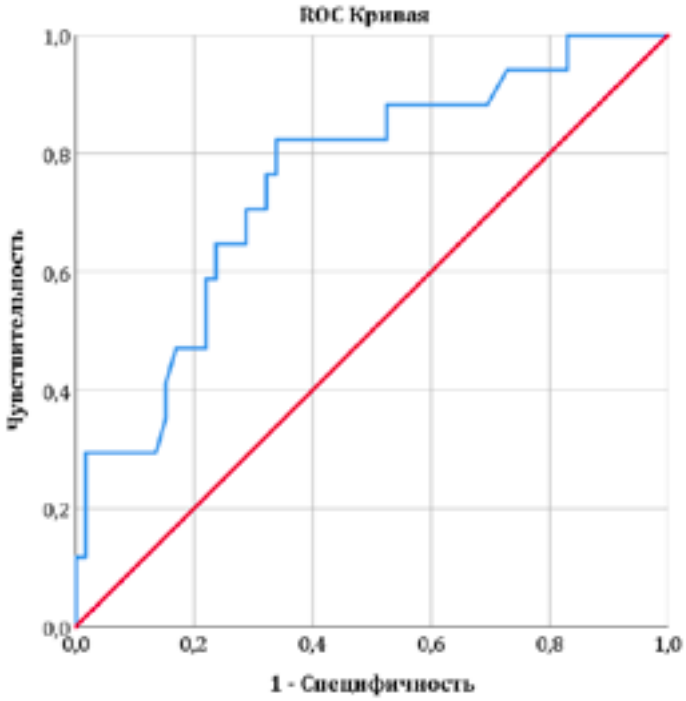


Рисунок 1. ROC-кривая предсказательной модели (визит 1). LASr, оцененный на визите 1, предсказывает положительный ДСТ на визите 2. **Примечание:** LASr - left atrial reservoir strain (деформация фазы резервуара левого предсердия)

Обсуждение

Следует отметить сниженную толерантность к ФН у пациентов без подтвержденной СНсФВ. Вероятно, этот признак не может быть компонентом PASC-CVS ввиду ведущей причины преждевременной остановки стресс-теста - мышечной усталости. Кроме того, одышка, описываемая такими пациентами, не является следствием нарушения диастолического резерва и связанной с ним перегрузкой правых отделов сердца.

Принимая во внимание низкую согласованность HFA-PEFF и H2FPEF [7], нами был выбран алгоритм HFA-PEFF для учета динамики концентрации NT-proBNP в течение периода наблюдения. Его уровень был выше референсного значения у большинства пациентов вне зависимости от СНсФВ на этапе отбора с уменьшением концентрации в течение периода наблюдения. Миокардиальный стресс (наиболее вероятная причина повышения NT-proBNP) может быть следствием иммунного воспаления и возможной воспалительной кардиомиопатии (КМП) [3,8]. В этом контексте следует указать на преимущественную локализацию ‘поражения миокарда’ ЛЖ в ранние сроки после перенесенной COVID-19: базальный и средний уровни ЛЖ (применение метода STE при ЭхоКГ и магнитно-резонансной томографии) [3, 9]. Согласно нашим данным, улучшение контрактильной функции у пациентов без СНсФВ было достигнуто за счет указанных уровней ЛЖ. Важно указать, что у пациентов без СНсФВ произошло улучшение диастолической функции ЛЖ в течение периода

наблюдения. Также у таких больных наблюдается лучшая комплаентность ЛП к ЛЖ. В рамках определения PASC-CVS выявленное может указывать на восстановление морфофункционального состояния ЛЖ после перенесенной COVID-19 пневмонии. Напротив, у больных СНсФВ такой динамики обнаружено не было, вероятно, ввиду повышенной экспрессии в кардиомиоцитах ангиотензинпревращающего фермента II и его специфической связи с белками SARS-CoV-2 [10].

Необходимо заметить, что ввиду современной тенденции к исследованию показателей деформации миокарда [11-13] стоит предпринимать попытки описания функциональной связи ЛП и ЛЖ. В этом отношении можно использовать индекс жесткости ЛП (left atrial stiffness index, LASI) [14], референсное значение которого, согласно нашим данным, было превышено у подавляющего большинства больных СНсФВ. Кроме того, учитывая наши данные, фазовый анализ деформации ЛП и связанную с ним комплаентность ЛП к ЛЖ, вероятно, можно использовать для прогнозирования восстановления морфофункионального состояния левых отделов сердца. Изложенное может быть учтено при реабилитации больных, перенесших COVID-19 пневмонию.

Вывод

Выявлено восстановление контрактильной и диастолической функций у пациентов без СНсФВ через 2 года после COVID-19 пневмонии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gluckman TJ, Bhave NM, Allen LA, et al. 2022 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Cardiovascular Sequelae of COVID-19 in Adults: Myocarditis and Other Myocardial Involvement, Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection, and Return to Play: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. J Am Coll Cardiol. 2022 May 3;79(17):1717-1756. doi: 10.1016/j.jacc.2022.02.003
2. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. J Am Soc Echocardiogr. 2015;28(1):1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003
3. Широков Н. Е., Ярославская Е. И., Криночкин Д. В. И др. Связь вариантов скрытой контрактильной дисфункции левого желудочка и признаков иммунного воспаления у пациентов, перенесших COVID-19-пневмонию. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(3):3434. doi:10.15829/1728-8800-2023-3434

4. Коган Е. А., Куклева А. Д., Березовский Ю. С. и др. Клинико-морфологическая характеристика SARS-CoV-2- ассоциированного миокардита, подтвержденного наличием РНК и белков вируса в ткани миокарда. Архив патологии. 2021;83(4):5-13. doi:10.17116/patol2021830415
5. Van Linthout S, Tschöpe C. Inflammation - Cause or Consequence of Heart Failure or Both? Curr Heart Fail Rep. 2017;14(4):251-65. doi:10.1007/s11897-017-0337-9
6. Pieske B, Tschope C, De Boer RA, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA–PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). European heart journal. 2019;40(40):3297-3317. doi: 10.1093/eurheartj/ehz641
7. Nikorowitsch J, Bei der Kellen R, Kirchhof P, et al. Applying the ESC 2016, H2FPEF, and HFA-PEFF diagnostic algorithms for heart failure with preserved ejection fraction to the general population. ESC Heart Failure. 2021;8(5):3603-3612. doi: 10.1002/ehf2.13532
8. Ammirati E, Frigerio M, Adler ED, et al. Management of Acute Myocarditis and Chronic Inflammatory Cardiomyopathy: An Expert Consensus Document. Circ Heart Fail. 2020;13(11):e007405. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007405
9. Wang H, Li R, Zhou Z, et al. Cardiac involvement in COVID-19 patients: mid-term follow up by cardiovascular magnetic resonance. J Cardiovas Magn Res. 2021;23(1):14. doi:10.1186/ s12968-021-00710-x
10. Guo J, Wei X, Li Q, Li, L, Yang, Z, Shi Y, et al. Single-cell RNA analysis on ACE2 expression provides insights into SARS-CoV-2 potential entry into the bloodstream and heart injury. J Cell Physiol 2020; 235(12): 9884-9894. doi:10.1002/jcp.29802
11. Ovchinnikov AG, Potekhina A, Belyavskiy E, et al. Left atrial dysfunction as the major driver of heart failure with preserved ejection fraction syndrome. Journal of Clinical Ultrasound. 2022;50(8):1073-1083. doi:10.1002/jcu.23318
12. Широков Н.Е., Ярославская Е.И., Криночкин Д.В. и др. Принципы диагностики сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса. Российский кардиологический журнал. 2023;28(3S):5448. doi.org: 10.15829/1560-4071-2023-5448
13. Сережина Е.К., Обрезан А.Г. Значимость эхокардиографической оценки деформации миокарда левого предсердия в ранней диагностике сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса. Кардиология. 2021;61(8):68–75. doi: 10.18087/cardio.2021.8.n1418
14. Kim D, Seo JH, Choi KH, et al. Prognostic Implications of Left Atrial Stiffness Index in Heart Failure Patients With Preserved Ejection Fraction. JACC Cardiovasc Imaging. 2023;16(4):435-445. doi: 10.1016/j.jcmg.2022.11.002

НЕЙРОХИРУРГИЯ

Бурденко Николай Нилович (1876–1946)

«Мы, врачи, можем сохранить жизнь 97% раненых. Мы надеемся, что смерть от раны явится исключением... и это то, о чём я мечтаю»

ТРАНСНАЗАЛЬНОЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ МЕНИНГИОМ СКАТА

Д.Н. Андреев, А.Н. Шкарубо, И.В. Чернов

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

Цель исследования

Оценка результатов хирургического лечения серии пациентов с менингиомами ската.

Материал и методы

Мы представляем опыт лечения 18 пациентов (у всех опухоли были большими или гигантскими) в ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России.

Результаты

Тотального удаления опухоли удалось достичь у 1 пациента (5,5%), субтотального у 5 (27,8%), частичного у 12 (66,7%). При этом во всех случаях удалось добиться декомпрессии стволовых структур и регресса гидроцефалии.

Заключение

Эндоскопический трансназальный доступ к менингиомам ската при соответствующих анатомических особенностях опухоли и окружающих структур является полноценной альтернативой транскраниальным вариантам лечения этой категории пациентов, позволяющей выполнять как радикальное удаление, так и декомпрессию стволовых структур, что уже само по себе обеспечивает продление жизни пациентам без снижения ее качества.

ДИАГНОСТИКА ДИФФУЗНОГО АКСОНАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ ДИФФУЗИОННО-КУРТОЗИСНОЙ МРТ И МЕТОДОВ РАДИОМИКИ

Рамин Малик оглы Афандиев

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

Введение. Предполагалось, что характеристики радиомики, рассчитанные по параметрическим картам ДК МРТ, могут различаться у здоровых людей и при травме, а также быть связанными с исходом ДАП.

Цель исследования: оценить информативность параметров радиомики по данным диффузионно-куртозисной МРТ (ДК МРТ) для выявления микроструктурных повреждений головного мозга при диффузном аксональном повреждении (ДАП) и прогнозирования его исходов.

Материалы и метод. Обследован 31 пациент с ДАП и 12 здоровых добровольцев.

Всего было рассчитано 342 300 параметров радиомики (по 2282 признака на каждую комбинацию 10 параметрических карт ДК МРТ с 15 областями интереса).

Результаты. Девять параметров радиомики достоверно различались у пациентов с разными исходами на уровне значимости $p < 0{,}0001$. Изображения здорового вещества мозга и пострадавшего от ДАП удалось различить с абсолютной точностью (100%) с помощью моделей машинного обучения LR, SVM и RF. Совокупность параметров радиомики является информативной для дифференцирования здоровых и поврежденных тканей головного мозга, а также прогнозирования исхода при ДАП.

Заключение. Расширенный спектр параметров радиомики по данным ДК МРТ демонстрирует высокий диагностический и прогностический потенциал при ДАП, а также преимущества перед традиционно используемыми средними значениями по областям интереса на параметрических картах ДК МРТ.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО КОМПЬЮТЕРНОГО ТОМОГРАФА И СОВРЕМЕННОЙ СИСТЕМЫ НАВИГАЦИИ В ХИРУРГИИ ПОЗВОНОЧНИКА

Е.С. Бринюк*, к.м.н., научный сотрудник, врач нейрохирург отделения спинальной нейрохирургии ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

**e-mail*: EBrinyuk@nsi.ru, тел.: +7(925)656-56-02

Резюме

Приоритетом при вмешательствах на позвоночнике и спинном мозге является безопасность пациента. С этой целью используются различные системы интраоперационной визуализации.

Цель работы - оценить эффективность применения интраоперационного спирального компьютерного томографа (иСКТ), совмещенного с системой навигации, и описать особенности и перспективы развития применения иСКТ и навигации в хирургическом лечении заболеваний позвоночника.

Материал и методы

В период с сентября 2017г по октябрь 2023г на базе спинального отделения ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России было выполнено более 1300 хирургических вмешательств пациентам с позвоночно-спинномозговой травмой, дегенеративными заболеваниями позвоночника, опухолями позвоночника и спинного мозга с использованием иСКТ и системы навигации.

Выводы

Использование иСКТ в комбинации с системой навигации представляет собой актуальное техническое решение при хирургическом лечении всех видов патологии позвоночника и спинного мозга.

Применение иСКТ повышает эффективность и безопасность хирургических вмешательств, позволяет оценить качество выполненных хирургических манипуляций и объёма декомпрессии непосредственно во время операции, повышает точность установки стабилизирующих систем, позволяет максимально упростить проведение минимально инвазивных операций. Использование данной технологии снижает операционное время и минимизирует лучевую нагрузку на хирургическую бригаду и пациента.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА "ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ" ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ МУТАЦИЙ H3K27 И BRAF V600E У ПАЦИЕНТОВ С ДИФФУЗНЫМИ ОПУХОЛЯМИ СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.А. Веселков[1], А.В. Гарюшин, к.м.н.[1,2], Е.А. Хухлаева, к.м.н.[1], А.Е. Друй, к.м.н.[2]

[1]Федеральное государственное автономное учреждение “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко” Министерства здравоохранения Российской Федерации

[2]Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения Российской Федерации

А.А. Веселков - https://orcid.org/0000-0003-2500-3403, AVeselkov@nsi.ru

А.В. Гаврюшин - https://orcid.org/0000-0002-8732-3114

Е.А. Хухлаева - https://orcid.org/0000-0003-2424-5582

А.Е. Друй - https://orcid.org/0000-0003-1308-8622

Ключевые слова: жидкостная биопсия, тканевая биопсия, глиомы ствола, диффузная срединная глиома, мутация H3K27m, глиальная опухоль ствола, чувствительность жидкостной биопсии

***Сокращения**:* ДНК - дезоксирибонуклеи́новая кислота; сцДНК - свободноциркулирующая ДНК; СМЖ - спинномозговая жидкость; ПЦР - полимеразная цепная реакция; цкПЦР - цифровая капельная аллель-специфическая полимеразная цепная реакция

Абстракт

Несмотря на расширение наших знаний о патогенезе диффузных опухолей ствола головного мозга, лечение их, в большинстве случае, назначается без морфологической и молекулярно-генетической верификации.

«Жидкостная биопсия» - малоинвазивная методика, которая позволила бы получить информацию о биологии новообразований, недоступных для стандартной биопсии. Основана она на выделении внеклеточных нуклеиновых кислот (в первую очередь, ДНК) из биологических жидкостей и определения в ней генетических аберраций, специфичных для опухолевых клеток. Несмотря на широкое применение данной технологии в диагностике и мониторинге экстракраниальных солидных неоплазий, в нейроонкологии она используется достаточно редко.

Мы поставили перед собой задачу определить эффективность этого метода для обнаружения мутаций H3K27 и BRAF V600E у пациентов с диффузными опухолями ствола.

Материалы и методы: 30 пациентам (10 детей, 20 взрослых) с рентгенологически верифицированными опухолями ствола головного мозга осуществлялся забор ликвора посредством люмбальной пункции. Свободноциркулирующая ДНК (сцДНК), выделенная из ликвора после реакции преамплификации, была использована для выявления мутаций *H3F3A* K28M и *BRAF* V600E методом цифровой капельной ПЦР. 24 пациентам исследование указанных мутаций осуществлялось параллельно в пуле сцДНК и ДНК, выделенной из ткани опухоли, полученной при стандартной биопсии новообразования.

Результаты: сцДНК в количестве, необходимом для проведения анализа, была получена во всех 30 случаях, что было подтверждено наличием амплификации аллеля, не несущего мутацию. Мутация в гене *BRAF* не была выявлена ни в одном случае, как при исследовании ткани опухоли, так и сцДНК. Онкогенная миссенс-мутация *H3F3A* K28M обнаружена в 7 образцах сцДНК и 8 образцах ДНК, выделенной из ткани опухоли, полученных от 24 пациентов, которым исследование было выполнено в параллели. Таким образом, конкордантность выявления мутации *H3F3A* K28M в ликворе и ткани опухоли составила 96% (22/23). У шести пациентов, которым стандартная биопсия выполнена не была, мутация *H3F3A* K28M, в ликворе не определялась.

Выводы: малоинвазивная диагностика опухолей ствола головного мозга методом «жидкостной биопсии» является информативной для выявления специфической мутации *H3F3A* K28M и позволяет в значительной доле случаев верифицировать диагноз диффузной срединной глиомы с альтераций H3 K27 (*H3* K28M) без проведения стандартной биопсии.

Abstract

Despite progress in our understanding of diffuse brainstem tumors pathogenesis the treatment of these neoplasms is mostly empirical and conducted without morphological and molecular genetic verification. Liquid biopsy is a minimally invasive technique that enables acquisition of information about tumor biology. It is based on the investigation of cell-free nucleic acids (predominantly, extracellular DNA) in biological fluids with detection of specific mutations. Despite its the wide implementation in diagnostics and disease monitoring in extracranial malignancies, it is infrequently applied in neuro-oncology.

The aim of our work is to determine the efficacy of this method for detecting H3K27 and BRAF V600E mutations in patients with diffuse brainstem tumors.

Materials and methods: In 30 patients (10 children and 20 adults) with brainstem tumors verified by neuro-imaging, cerebrospinal fluid was collected by the lumbar puncture. Cell-free DNA (cfDNA) after the preamplification was used in digital droplet PCR for determination of the *H3F3A* K28M and *BRAF* V600E oncogenic missense variants. In 24 patients investigation of cfDNA was performed in parallel with the analysis of correspondent mutations in DNA derived from tumor tissue.

Results: Amplifiable cfDNA was acquired in all cases, which was confirmed by presence of the wild-type alleles. None of the patients harbors *BRAF* V600E mutation either in cfDNA or tumor tissue. *H3F3A* K28M variant was detected in 7 CSF samples and 8 tumor specimens from patients underwent surgical biopsy. Thus, overall concordance in the determination of the *H3F3A* K28M variant was 96% (22/23). In six cases standard biopsy was not performed. These patients had no detectable mutant copies of the *H3F3A* gene in the CSF.

Conclusions: investigation of specific genetic alterations by liquid biopsy serves as a minimally invasive and highly informative technique for the diagnostics of brainstem tumors. Detection of *H3F3A* K28M mutant allele provides straightforward verification of diffuse midline glioma, H3 K27 altered in the majority of cases without standard biopsy.

Введение

Несмотря на развитие нейроонкологии и расширения нашего представления об диффузных опухолях головного мозга не только на клеточном, но и на молекулярно-генетическом уровне, до сих пор в большинстве случаев диагностика и лечение этих новообразований ствола основывается лишь на данных МРТ. Проведение инвазивной диагностики из-за локализации процесса в месте, где сконцентрированы «жизненно важные центры» порой затруднительно и сопряжено с риском нарастания неврологической симптоматики [1; 2].

«Жидкостная биопсия» — это методика, которая может обеспечить безопасную диагностику пациентов с диффузными опухолями ствола мозга. Это высокотехнологичный, малоинвазивный метод, выявляющий генетические аберрации в опухолевой ДНК, получаемой из биологических жидкостей (ликвор, кровь и т.д.). Сегодня эта технология уже широко применяется в онкологии, но в диагностике диффузных опухолей ствола используется редко, в виду малой её изученности [3; 4]. В литературе нет указаний о порядке и количестве забора исследуемого материала, что позволило бы улучшить чувствительность метода, а также для опухолей ствола не приводится данные о частоте совпадений выявляемой мутаций в ликворе и ткани, что не позволяет говорить о взаимозаменяемости методик [5–7].

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе двух центров: ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н.Бурденко» Минздрава России и ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование включено 30 пациентов с опухолями ствола мозга, проходивших обследование и лечение в ФГАУ НМИЦ НХ МЗ РФ в период с апреля по декабрь 2023г. Это были как пациенты детского возраста (до 18 лет, n = 10; медиана возраста -11 лет), так и взрослые (n = 20; медиана возраста – 40 лет).

Все пациенты были клинически и рентгенологически обследованы.

У 24 было проведено хирургическое вмешательство, целью которого было либо удаление новообразования ствола мозга, либо получение биопсийного материала. В 6 случаях от биопсии решено было воздержаться из-за локализации бессимптомного процесса в области продолговатого мозга или моста, а также высокого риска появления неврологической симптоматики после операции.

В качестве источника сцДНК использовалась СМЖ, полученная при люмбальной пункции. Забор и хранение ликвора осуществлялись с использованием вакуум-систем со стабилизатором внеклеточной ДНК (Градбиомед, Россия). Молекулярно-генетическое

исследование выполнялось в лаборатории молекулярной онкологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Фракция сцДНК выделялась из 4мл. СМЖ набором QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (QIAgen, Германия). Измерение концентрации выделенной сцДНК, реакция преамплификации целевых фрагментов генов *H3F3A* и *BRAF* и цкПЦР для выявления онкогенных миссенс-вариантов *H3F3A* K28M и *BRAF* V600E осуществлялись в соответствии с методикой, описанной ранее [8].

Исследование опухолевой ткани, полученной при биопсии или резекции новообразования выполнялось как на базе НМИЦ Нейрохирургии им. ак. Н.Н.Бурденко, так и на базе ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и включало в себя гистологическое и иммуногистохимическое исследование с целью верификации диагноза, а также анализ вышеперечисленных мутаций в генах *H3F3A* и *BRAF* с помощью аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени. Для выявления мутаций в 600 кодоне гена *BRAF* применялся набор BRAF Codon 600 Mutation Analysis Kit II, Cat. # BRAFX-RT64 (EntroGen, США), определение миссенс-мутации *H3F3A* K28M осуществлялось с использованием тех же олигонуклеотидных праймеров и зондов, что и для цкПЦР.

Результаты

С учетом параметров МРТ сигнала лишь у 5 пациентов были классические «МР-отграниченные» опухоли ствола. Эти образования либо не накапливали контраст (n = 3), либо накаливали его по периферии в виде «кольца» (n = 2).

В остальных случаях это были пациенты с диффузными образованиями (n = 25) с преимущественной локализацией в области моста (n = 18) и различными вариантами накопления контраста от полного его отсутствия (n = 11) или точечного накопления (n = 6), до неравномерного (n = 3) или очагово-кольцевидного накопления (n = 5).

Из последней группы у 8 пациентов тип роста опухоли по МРТ можно охарактеризовать как «промежуточный», когда в диффузной опухоли визуализировались зоны отграниченного сигнала. Эти «МР-отграниченные» участки накапливали контраст в виде кольца, при этом контрастирования в оставшейся диффузной части опухоли не наблюдалось (очагово-кольцевидное накопление) (рис.1 а, б, в, г).

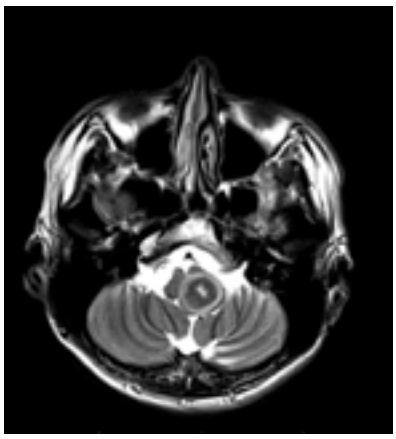


Рис.1а.

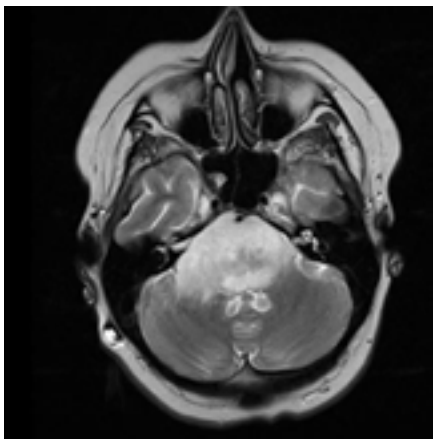


Рис.1б

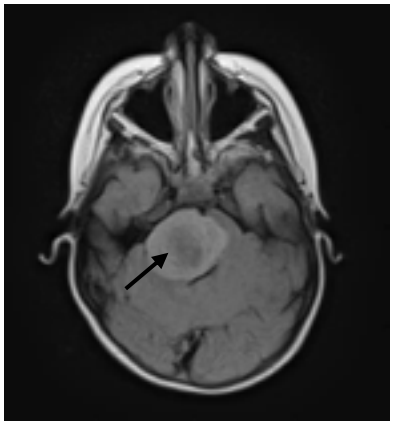


Рис.1в.

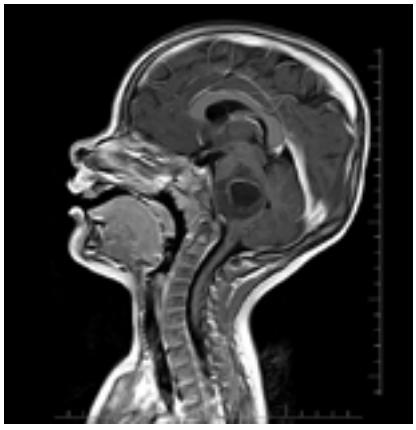


Рис.1г.

Рис. 1. Варианты опухолей ствола мозга: **а** – «МР-отграниченная» опухоль, образование гетерогенного сигнала в режиме Т2 левой половины продолговатого мозга; **б** – диффузная опухоль ствола мозга, образование преимущественно повышенного сигнала в режиме Т2 моста мозга, мост деформирован, увеличен в размере; **в,г** - «промежуточная форма» опухоли ствола: в режиме FLAIR в образовании повышенного сигнала в проекции моста визуализируется зона пониженного сигнала (**в**, стрелка), которая накапливает контрастное вещество по периферии (**г**)

Явной корреляции между давностью заболевания и МРТ характером опухоли не прослеживалось и у большинства пациентов (n = 17) она составила более 3-х месяцев.

Клинически заболевание проявлялось преимущественно головными болями (n = 9), вестибулярным синдромом и атаксией (n = 7), реже глазодвигательными наращениями (n = 4) и пирамидной недостаточностью (n = 3).

Ткань опухоли для морфологического и молекулярно-генетического анализа получена у 24 пациентов. У 10 из них, с «отграниченными» (n = 3) и «промежуточными» (n = 7) формами опухолей, была выполнена субтотальная или частичная резекция образования. У пациентов с

диффузными опухолями и у одного пациента с «промежуточной» формой опухолей с произведена биопсия: стереотаксическая из прекоронарной точки (n = 9); открытая (n = 4).

Гистологическое исследование биопсионного материала выявило диффузные гли различной степени злокачественности (n = 19) и атипичную тератоидно-рабдоидную опухс = 1). У 1 пациента биопсия оказалась неинформативной. Молекулярно-генетич исследование позволило обнаружить онкогенную миссенс-мутацию *H3F3A* K28M (т известную под названием *H3* K27M) у 7 пациентов с морфологическим диагнозом дифф астроцитома и одного пациента с диагнозом глиобластома, в связи с чем, интегральный ди у них звучал как диффузная срединная глиома с альтерацией H3 K27 (n = 8). Генетиче вариантов в кодоне 600 гена *BRAF* не было выявлено ни в одном случае.

Забор спинномозговой жидкости для последующего выделения циркулирующей опухолевой ДНК производился перед началом операцией путем люмбальной пункции. случаях, когда последующей морфологической верификации не проводилось, люмбальная пункция была выполнена в амбулаторных условиях и эти пациенты находились под наблюде в течение 2 часов после манипуляции. У детей бралось 5мл. ликвора, у взрослых – 10мл объемы ликвора были выведены эмпирически.

Свободноциркулирующая ДНК в количестве, необходимом для проведения анализа получена во всех 30 случаях, что было подтверждено наличием амплификации аллел несущего мутацию (аллеля «дикого типа»). Аналогично исследованию ткани опухоли, мут *BRAF* V600E не была выявлена ни в одном случае. Онкогенная миссенс-мутация *H3F3A* K определялась в 7 образцах сцДНК, полученных от 24 пациентов, у которых молекул генетическое исследование ткани опухоли и сцДНК было осуществлено в параллели. В случаях указанная мутация не была выявлена ни в ликворе, ни в ткани опухоли. Только у од пациента онкогенный вариант *H3F3A* K28M определенный в ткани опухоли не был подтвер при исследовании СМЖ, что объясняется меньшей аналитической чувствительностью м жидкостной биопсии. Таким образом, общая конкордантность выявления мутации *H3F3A* K в ликворе и ткани опухоли составила 96% (22/23) (Рис.2). У шести пациентов, кот стандартная биопсия выполнена не была, и 1 пациента с негативным результатом стандар биопсии мутация *H3F3A* K28M в ликворе не определялась (таб.1).

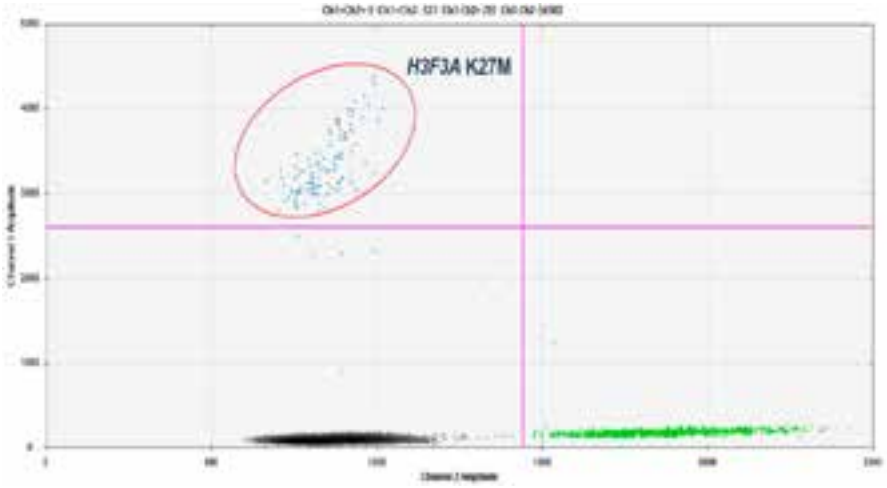


Рис. 2. Детекция мутации H3F3A Lys28Met (K27M) методом цифровой капельной ПЦР. Капли, в которых произошла амплификация мутантного аллеля обозначены синим цветом, в которых произошла амплификация аллеля "дикого типа" - зеленым цветом

Таб. 1. Характеристика пациентов и результаты молекулярно-генетического исследования ликвора и ткани опухоли

№	Возраст	Пол	Тип роста опухоли по МРТ	Топография	Операция	Морфология	H3K27 в ткани	H3K27 в ликворе
1	31	ж	диф	М	ОБ	ДА	-	-
2	19	м	отгр.	ПМ	СУ	ПА	-	-
3	9	ж	диф/отгр	СМ	СУ	ПА	-	-
4	17	м	диф.	М	ОБ	ДА	+	-
5	7	ж	диф/отгр	М	СУ	ДСГ	-	-
6	20	ж	диф.	М	Операция не проводилась			-
7	15	ж	диф/отгр	ПМ, М	ПУ	ГЬ	-	-
8	42	ж	диф	ПМ, М	СТБ	ДА	-	-
9	66	ж	диф	СМ	СТБ	ГБ	-	-
10	47	ж	диф	М	СТБ	ДА	+	+
11	30	ж	диф	ПМ, М	Операция не проводилась			-
12	6	ж	диф/отгр	М	ПУ	ДА	+	+
13	63	м	диф	СМ	СТБ	ГБ	-	-
14	7	ж	диф	ПМ	Операция не проводилась			-
15	72	м	отгр	ПМ	СУ	ПА	-	-
16	22	ж	диф/отгр	ПМ, М	СУ	ДА	+	+

17	12	м	диф/отгр	М	ПУ	ДА	+	+
18	41	м	диф	М	СТБ	ДА	-	-
19	21	м	отгр	СМ	ТУ	АТРО	-	-
20	17	м	диф	ПМ, М	Операция не проводилась			-
21	49	м	диф	М	ОБ	ДА	-	-
22	69	м	диф	ПМ, М	СТБ	ДА	+	+
23	21	ж	диф	М	СТБ	ДА	-	-
24	16	ж	отгр	ПМ	Операция не проводилась			-
25	5	ж	диф/отгр	М	ПУ	ДСГ	+	+
26	47	м	диф/отгр	СМ	ОБ	ДА	-	-
27	37	ж	диф	М	СТБ	ДА	-	-
28	27	м	отгр	М	ПУ	ГБ	+	+
29	55	м	диф	ПМ, М	СТБ	негативный		-
30	24	м	диф	ПМ, М	Операция не проводилась			-

Обозначения, используемые в таблице: диф. – диффузная опухоль; отгр. – отграниченная опухоль; диф./отгр. – промежуточная форма опухоли; СМ – средний мозг; М – мост; ПМ- продолговатый мозг; СТБ – стереотаксическая биопсия; ТУ – тотальное удаление; СУ – субтотальное удаление; ПУ – парциальное удаление; ОБ – открытая биопсия; ГБ – глиобластома, ДСГ – диффузная срединная глиома, ДА – диффузная астроцитома, АТРО – атипичная тератоидно-рабдоидная опухоль.

Обсуждение

Диффузные опухоли ствола головного мозга – онкопатология, при которой до сих пор лечение, преимущественно в виде лучевой терапии, назначается без четкого представления о клеточной структуре образования, не говоря уже о её молекулярно-генетическом устройстве. Связано это с преобладанием диффузных форм (в 80% у детей и в 50-60% случаев у взрослых) которые не подлежат хирургическом удалению, а проведение их биопсии, как стереотаксической, так и открытой, рассматривается большинством специалистов нецелесообразным в виду «достаточной информативности» МРТ и высокого риска неврологических осложнений после хирургических манипуляции [1; 9].

«Жидкостная биопсия» — это малоинвазивная альтернатива традиционным методам биопсии позволяющая получить представление о молекулярных маркерах опухоли. В основе метода лежит анализ следовых количеств ДНК опухолевых клеток, свободно циркулирующих в крови, слюне и СМЖ.

На сегодняшний день, описаны способы выделения циркулирующей опухолевой ДНК, микро-РНК, внеклеточных везикул и экзосом опухолевых клеток, а также возможности выявления в них специфических мутаций или характерного генетического профиля, которые помогают в постановке диагноза и оценке динамики заболевания, а также могут являться маркерами чувствительности к препаратам молекулярно-направленной (таргетной) терапии. При этом, специфичность и чувствительность методики «жидкостной биопсии» при исследовании опухолей различных локализаций до конца не изучены.

Лишь в единичных публикациях приводятся данные об исследовании в параллели мутаций H3F3A K28M в биопсионном материале и СМЖ при опухолях ЦНС, но анализируемы группы пациентов разнородны, как по морфологии опухолей, так и по их топографии, что не позволят считать приводимые данные о чувствительности метода (55,5%) «надежными» [8]. Для пациентов с опухолями ствола, особенно для взрослых, на сегодняшний день в литературе нет сведений о сравнении результатов «жидкостной» и тканевой биопсий, что не дает право говорить о взаимозаменяемости методик [10–12].

СМЖ считается наиболее приемлемой биологической средой для исследования сцДНК в диагностике опухолей ЦНС. Использование иных сред, например, плазмы крови, менее эффективно из-за гематоэнцефалического барьера (зачастую, интактного при глиальных опухолях ствола головного мозга), который препятствует распространению циркулирующих опухолевых клеток и сцДНК. Но, по данным литературы, показатели чувствительности «жидкостной биопсии» ликвора при опухолях ЦНС сильно разнятся - от 39% до 95% [5; 13; 14].

Такая вариабельность публикуемых данных обусловлена разными подходами в сборе и хранении образца для дальнейшего его изучения, используемых методов для выделения сцДНК и определения мутаций (аллель-специфическая ПЦР или высокопроизводительное секвенирование) [15–20].

Считается, что люмбальный ликвор менее информативный источник сцДНК, чем вентрикулярный. Так, в опубликованных материалах [8] указывается на то, что в ликворе полученном в ходе операции из желудочков мозга концентрация сцДНК и вероятность выявления мутации H3K27M выше, чем в люмбальном ликворе, но при этом забор люмбального ликвора, в этих исследованиях, не был унифицирован (от 1 мл до 3,5 мл), а в ряде случаев производился уже после хирургического вмешательства, когда концентрация сцДНК уже значимо была снижена [21–23].

По нашему мнению, путь получения ликвора для исследования не оказывает такого влияния на чувствительность методики, какое оказывает его объем.

В 2009 г. Teunissen et al., предложили протокол забора люмбального ликвора для изучения сцДНК в объеме 12мл., но этот алгоритм не нашёл широкого применения на практике из-за риска развития постпункционного синдрома, который встречается в 3% - 7,5% случаев при заборе большого объема СМЖ [5; 24; 25] и в большинстве публикаций количество ликвора, взятого для исследования, авторами вообще не упоминается.

В нашей серии, объем СМЖ (10мл. для взрослых и 5мл. для пациентов детского возраста) был взят эмпирически. Ни в одном из случаев мы не наблюдали постпункционных осложнений, но во всех наблюдениях (n = 30, 100%) нам удалось выделить из ликвора сцДНК для дальнейшего её изучения.

Циркуляция СМЖ является до конца неизученным и сложным физиологическим процессом. При локализации опухоли в головном мозге сцДНК может не попадать в субарахноидальное пространство поясничной области. Взятие большого объема ликвора увеличивает вероятность попадания циркулирующей опухолевой ДНК в материал. Ряд авторов в своих публикациях уже указывали на такую особенность как изменение градиента вещества по мере тока СМЖ [26; 27].

Очевидно, что вентрикулярный ликвор, при опухолях головного мозга, должен содержать большее количество сцДНК, чем люмбальный, но это «преимущество» можно нивелировать увеличением количества получаемой СМЖ. Более того, люмбальную пункцию можно выполнить в амбулаторных условиях, как было в наших 6 наблюдениях, что существенно расширяет диагностические возможности метода «жидкостной биопсии», а вопрос о необходимом минимальном объеме ликвора для получения сцДНК остается открытым, актуальным, и требует дальнейшего изучения.

Полученный нами результат, конкордантность выявления мутации H3F3A K28M в люмбальном ликворе и ткани 96% у пациентов с опухолями ствола мозга, свидетельствует о высокой чувствительности метода «жидкостной биопсии» как у детей, так и у взрослых, что является перспективным в малоинвазивной диагностике диффузных срединных глиом (diffuse midline glioma).

Заключение

Длительное время правильный морфологический диагноз являлся «краеугольным камнем» в онкологии. На нем были основаны классификации опухолей и схемы их лечения. Но сегодня помимо клеточного строения опухоли важно знать и её молекулярно-генетическую

структуру, из-за чего последняя классификация ВОЗ опухолей ЦНС стала более молекулярно-направленной и диагноз первичных опухолей мозга перестал быть только гистологическим [28].

Такой подход привел к выделению новой группы опухолей ствола головного мозга – диффузные срединные глиомы (diffuse midline glioma). Эти образования характеризует мутация K28M в генах *H3F3A* (гистон H3.3, 75%) и реже в H3C3 (гистон H3.1, 25%) независимо от их морфологической структуры.

Малоинвазивная методика «жидкостной биопсии» позволяет улучшить диагностику глиальных опухолей ствола. Выявление мутации *H3F3A* K28M в сцДНК полученной из люмбального ликвора дает возможность выставить диагноз диффузная срединная глиома ствола без гистологической верификации, но при этом отсутствие выявленной мутации однозначно не исключает данный диагноз и требует рассмотрения вопроса о проведении стандартной биопсии, особенно в случаях нетипично МРТ картины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for brainstem tumors: a systematic review and meta-analysis of 1480 cases / P. Kickingereder [и др.] // Neurosurgery. – 2013. – Т. 72. – Diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for brainstem tumors. – № 6. – С. 873-881; discussion 882; quiz 882.
2. Independent predictors of morbidity after image-guided stereotactic brain biopsy: a risk assessment of 270 cases / M.J. McGirt [и др.] // Journal of Neurosurgery. – 2005. – Т. 102. – Independent predictors of morbidity after image-guided stereotactic brain biopsy. – № 5. – С. 897-901.
3. Next generation sequencing techniques in liquid biopsy: focus on non-small cell lung cancer patients - PubMed [Электронный ресурс]. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27826531/ (дата обращения: 15.09.2023).
4. Parikh A.R. Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers / A.R. Parikh // Nature Medicine. – 2019. – Vol. 25.
5. Liquid biopsy in gliomas: A RANO review and proposals for clinical applications / S. R [et al.] // Neuro-oncology. – 2022. – Vol. 24. – Liquid biopsy in gliomas. – № 6.
6. Novel Molecular Markers in Glioblastoma—Benefits of Liquid Biopsy / Z. Birkó [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 20. – P. 7522.
7. New perspectives in liquid biopsy for glioma patients / P. F [et al.] // Current opinion in oncology. – 2022. – Vol. 34. – № 6.

8. Methodological Challenges of Digital PCR Detection of the Histone H3 K27M Somatic Variant in Cerebrospinal Fluid / M. Zaytseva [et al.] // Pathology and Oncology Research. – 2022. – Vol. 28. – P. 1610024.
9. C J. Complications of glioma surgery / J. C, W. M, Q.-H. A // Handbook of clinical neurology. – 2016. – Vol. 134.
10. Bounajem M.T. Liquid biopsies for the diagnosis and surveillance of primary pediatric central nervous system tumors: a review for practicing neurosurgeons / M.T. Bounajem, M. Karsy, R.L. Jensen // Neurosurgical Focus. – 2020. – Vol. 48. – Liquid biopsies for the diagnosis and surveillance of primary pediatric central nervous system tumors. – № 1. – P. E8.
11. Personalized Treatment of H3K27M-Mutant Pediatric Diffuse Gliomas Provides Improved Therapeutic Opportunities / J. Gojo [et al.] // Frontiers in Oncology. – 2020. – Vol. 9. – P. 1436.
12. Photodynamic therapy for malignant brain tumors in children and young adolescents / C. K [et al.] // Frontiers in oncology. – 2022. – Vol. 12.
13. Blood-Based Biomarkers in High Grade Gliomas: a Systematic Review / P. D [et al.] // Molecular neurobiology. – 2019. – Vol. 56. – Blood-Based Biomarkers in High Grade Gliomas. – № 9.
14. CSF Biopsy in Glioma: A Brief Review / J. H [et al.] // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). – 2023. – Vol. 2695. – CSF Biopsy in Glioma.
15. Evaluating Cancer of the Central Nervous System Through Next-Generation Sequencing of Cerebrospinal Fluid / E.I. Pentsova [и др.] // Journal of Clinical Oncology. – 2016. – Т. 34. – № 20. – С. 2404-2415.
16. Molecular Diagnosis of Diffuse Gliomas through Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA from Cerebrospinal Fluid | Clinical Cancer Research | American Association for Cancer Research [Электронный ресурс]. – URL: https://aacrjournals.org/clincancerres/article/24/12/2812/80896/Molecular-Diagnosis-of-Diffuse-Gliomas-through (дата обращения: 26.10.2023).
17. Ta J. Determining optimal treatment strategy for diffuse glioma: the emerging role of IDH mutations / J. Ta, C. Dp, M. Ie // Expert review of anticancer therapy. – 2015. – Vol. 15. – Determining optimal treatment strategy for diffuse glioma. – № 6.
18. Detection of cell-free DNA fragmentation and copy number alterations in cerebrospinal fluid from glioma patients / F. Mouliere [и др.] // EMBO Molecular Medicine. – 2018. – Т. 10. – № 12. – С. e9323.
19. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas / Cancer Genome Atlas Research Network [и др.] // The New England Journal of Medicine. – 2015. – Т. 372. – № 26. – С. 2481-2498.

20. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis | Signal Transduction and Targeted Therapy [Электронный ресурс]. – URL: https://www.nature.com/articles/s41392-020-00258-9 (дата обращения: 26.10.2023).
21. D M. Circulating Biomarkers in Glioblastoma: Ready for Prime Time? / M. D, P. J // Cancer journal (Sudbury, Mass.). – 2021. – Vol. 27. – Circulating Biomarkers in Glioblastoma. – № 5.
22. Blood-based biomarkers for the diagnosis and monitoring of gliomas / Z. Ma [et al.] // Neuro-oncology. – 2018. – Vol. 20. – № 9.
23. Applications of cerebrospinal fluid circulating tumor DNA in the diagnosis of gliomas / Z. Z [et al.] // Japanese journal of clinical oncology. – 2020. – Vol. 50. – № 3.
24. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking / T. Ce [et al.] // Neurology. – 2009. – Vol. 73. – № 22.
25. Diener H.C. [Postpuncture headache] / H.C. Diener, M. Bendig, V. Hempel // Fortschritte Der Neurologie-Psychiatrie. – 1985. – Т. 53. – № 9. – С. 344-349.
26. Discontinuos distribution of IgG oligoclonal bands in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients / G. Martino [и др.] // Journal of Neuroimmunology. – 1990. – Т. 30. – № 2. – С. 129-134.
27. Reiber H. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid / H. Reiber // Clinica Chimica Acta. – 2001. – Т. 310. – № 2. – С. 173-186.
28. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary / L. Dn [et al.] // Neuro-oncology. – 2021. – Vol. 23. – The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. – № 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАЗОРВАВШИХСЯ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ

М.И. Деркач[1,2,3*], Р.С. Джинджихадзе[1,2], А.В. Поляков[2], А.Д. Зайцев[2], В.А. Лазарев[1]

[1]ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия

[2]ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

[3]ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

**Контактный телефон* +79779476438

Введение. Аневризматическое субарахноидальное кровоизлияние (САК) встречается с частотой от 2 до 16 случаев на 100 тыс. населения в год. При разрыве аневризмы риск смерти без хирургического лечения достигает 60-70% в течение года. САК наиболее часто возникает в возрасте 40-60 лет, что обусловливает высокую социально-экономическую значимость данной патологии.

Цель. Проанализировать непосредственные и отдаленные функциональные исходы и возвращение пациентов к трудовой деятельности после микрохирургического клипирования разорвавшихся церебральных аневризм в остром периоде.

Материалы и методы. Проведено микрохирургическое клипирование церебральных аневризм у 517 пациентов в остром периоде субарахноидального кровоизлияния в период с 2019 по 2022г в нейрохирургическом отделении ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Исходы оценивали непосредственно после микрохирургического клипирования церебральных аневризм и через 1, 3, 6 и 12 месяцев в динамике по расширенной шкале исходов Глазго, модифицированной шкале Рэнкин. Проводили через 12 месяцев оценку качества жизни пациентов по Европейскому опроснику EuroQol-5D-3, оценку психического статуса по шкале MMSE, оценку уровня тревоги по шкале HARS.

Результаты. При анализе выхода на работу в послеоперационном периоде мы отметили, что 279 (87,8%) пациентов вернулись на прежнюю работу в течение 12 месяцев после микрохирургического вмешательства, к прежнему труду не вернулись 39 (12,2%) пациентов. 36 (92,3%) пациентов не вернувшихся к прежней трудовой деятельности имели Fisher 3-4 и 37 (94,2%) пациентов имели Hunt-Hess 3-5.

На основании анализа функциональных исходов выявлена зависимость восстановления трудоспособности пациентов после микрохирургического клипирования аневризм в остром периоде кровоизлияния от таких критериев, как возраст, пол, состояние пациентов по шкале

Hunt-Hess в дооперационном периоде, выраженность САК по шкале Fisher, локализация и размер аневризмы и выполненный доступ.

Заключение. Качество жизни и трудоспособность лиц молодого и среднего возраста после аневризматических кровоизлияний представляет как экономический интерес для пациентов, так и является глобальной социально-экономической проблемой для общества. Возможность прогнозировать возвращение к трудовой деятельности в раннем послеоперационном периоде повышает эффективность послеоперационного лечения и реабилитационных мероприятий.

БИВЕНТРИКУЛЯРНОЕ ДРЕНИРОВАНИЕ ОДНИМ ВЕНТРИКУЛЯРНЫМ КАТЕТЕРОМ У ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ ХИАЗМАЛЬНО-СЕЛЛЯРНОЙ ОБЛАСТИ

А.Д. Донской*

*adonskoj@nsi.ru+7977-734-89-85

Введение. При различных опухолях хиамазльно-селлярной области (ХСО) за счет блокирования ликворопроводящих путей, на разных этапах лечения – до или после их удаления, иногда возникает необходимость дренирования обоих боковых желудочков. Обычно каждый боковой желудочек дренируется отдельными катетерами, а процедура постановки катетеров существенно усложняется. После анализа результатов двухстороннего дренирования двумя катетерами в различных вариантах у 42 пациентов, нами разработаны методики, позволяющие дренировать оба боковых желудочка одним вентрикулярным катетером.

Цель. Определить эффективность и безопасность дренирования обоих боковых желудочков одним вентрикулярным катетером у пациентов с опухолями ХСО.

Материалы и методы. В серию вошли 12 пациентов. У всех пациентов клинико-рентгенологическое исследование выявило наличие окклюзионной гидроцефалии на уровне обоих отверстий Монро. В 8 случаях выполнена трансвентрикулярная транссептальная установка вентрикулярного катетера, в 4 - установка вентрикулярного катетера под контролем эндоскопа.

Результаты. У всех пациентов отмечалась положительная динамика в неврологическом статусе. У 11 из 12 пациентов не было отмечено ни ранних, ни поздних послеоперационных осложнений за время наблюдения. У 1 пациента возникло кровотечение по ходу установленного катера, не потребовавшей ревизии. Дополнительных операций не производилось. Шунт-ассоциированных инфекций у этих пациентов не отмечено. Шунтирующие системы установлены корректно во всех случаях. Во всех случаях использован стандартный набор для вентрикулоперитонеального шунтирования, дополнительные компоненты системы не потребовались. Длительность операций не превышала общепринятых сроков.

Выводы. Бивентрикулярное дренирование одним вентрикулярным катетером у пациентов с опухолями ХСО возможно, и является эффективной, безопасной методикой. При этом количество осложнений не выходит за рамки стандартной шунтирующей операции.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И ПОДКОРКОВЫХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА, ПРИЛЕЖАЩИХ К ПИРАМИДНОМУ ТРАКТУ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МР-ТРАКТОГРАФИИ И ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА У ДЕТЕЙ

Р.А. Каххаров*, Ш.У. Кадыров, А.А. Огурцова, Р.М. Афандиев

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

**Для корреспонденции*: 89673707852, ruslan.kahharov@mail.ru, rkahharov@nsi.ru.

Введение

Конец 20 века ознаменовался развитием нейрохирургии в связи с успехами в области нейробиологии в совокупности с техническим прогрессом, что привело к появлению соответствующего инструментария. Стало возможным оперировать опухоли ранее недоступных анатомических зон, в том числе опухоли области моторной коры и в близости прохождения кортикоспинального тракта (КСТ) супра- и субтенториально [1-7].

Актуальной проблемой современной нейрохирургии является резекция опухолей головного мозга, прилежащих к кортикоспинальному тракту, в связи с высоким риском его повреждения и инвалидизации пациентов. При этом известно, что радикальность операции коррелирует с выживаемостью пациентов. Основной концепцией резекции опухолей вблизи КСТ является радикальное удаление опухоли с сохранением двигательного статуса. Для предоперационной визуализации моторной коры, положения КСТ по отношению к опухоли и планирования хирургического доступа в детской нейрохирургии применяется МР-трактография [8-12, 20-24]. Основным методом предотвращения повреждения КСТ во время операции является интраоперационный нейрофизиологический мониторинг (ИОМ) [13-18].

В последние годы появились публикации, посвященные предоперационной МР-трактографии и интраоперационному нейрофизиологическому мониторингу в детской нейрохирургии [19-24]. Однако, необходимо дальнейшее изучение нейровизуализационных аспектов расположения КСТ, подтверждение информативности и оптимального объема нейрофизиологического мониторинга при опухолях вблизи КСТ у детей с различным анатомическим расположением опухоли, оценка точности обоих методов в совокупности. Исследования последних лет только наметили пути развития алгоритмов построения проводящих путей по данным ДТ МРТ (МР-трактографии) – примером является CSD-HARDI МР-трактография [7,25-27].

Таким образом, в современной нейрохирургии, актуальным вопросом лечения детей в настоящее время является улучшение качества жизни после радикальной операции.

Цель исследования – при помощи интраоперационного нейрофизиологического пособия и предоперационной нейровизуализации (МР-трактография) оптимизировать хирургическую стратегию лечения детей с опухолями головного мозга, прилежащих к кортикоспинальному тракту.

Материалы и методы

С 2016 по 2023 год на базе 1-го детского нейрохирургического отделения ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» прооперировано 119 детей с опухолями больших полушарий и подкорковых структур, которые прилегали к пирамидному тракту.

В исследование включались следующие анатомические группы опухолей (Рисунок 1):

- Опухоли больших полушарий области моторной коры головного мозга: а. Опухоли центральных извилин (ЦИ); б. Гигантские опухоли больших полушарий (ГО);
- Опухоли подкорковых структур (глубинные опухоли): а. Опухоли таламуса (передних (ПТ), медиальных (МТ) и задних отделов таламуса (ЗТ)); б. Опухоли таламопедункулярной области (ТП); в. Опухоли зрительного тракта (ЗрТ); г. Распространенные опухоли подкорковых узлов (РОПУ).

Гендерное распределение было примерно одинаковым (1:1): мужского пола 58 пациентов (48,8%), женского пола 61 пациент (51,2%). Возраст пациентов варьировал от 6 месяцев до 18 лет, средний возраст составил 8,8 лет. Опухоль располагалась справа у 47 пациентов (39,5%), слева – у 72 (60,5%). Опухоли разделены по степени злокачественности согласно гистопатологической классификации Всемирной организации здравоохранения, редакция от 2021 г.

Диагноз устанавливался на основании клинических данных, КТ и МРТ головного мозга. Метод МР-трактографии (режим DTI, CSD-HARDI) был проведен 45 пациентам (37,8%). Он позволял оценить состояние кортикоспинального тракта, варианты смещения его в зависимости от групп опухолей. В части наблюдений производился расчет CSD-HARDI (Constrained spherical deconvolution – high angular resolution diffusion imaging) трактография. По данным стандартной МР-трактографии визуализировалось отношение КСТ к опухолевой ткани. При режиме CSD-HARDI можно было отследить ход волокон КСТ до моторной коры, разложение волокон КСТ по группам мышц (лицо, рука и нога), визуализировать истонченный тракт. Критериями включения пациентов явились - дети от 0 до 18 лет, расстояние солидной части опухоли до КСТ по данным

стандартного МРТ головного мозга или МР-трактографии не более 1 см. Исключались пациенты с факоматозами или другими хроническими поражениями нервной системы, которые могли повлиять на двигательный статус.

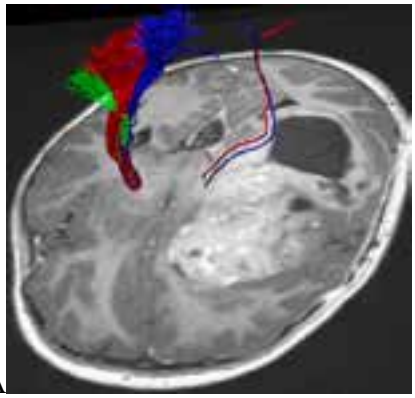
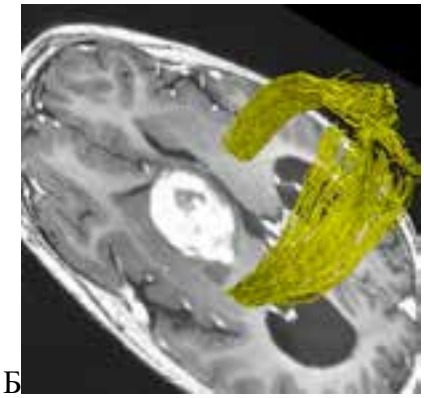
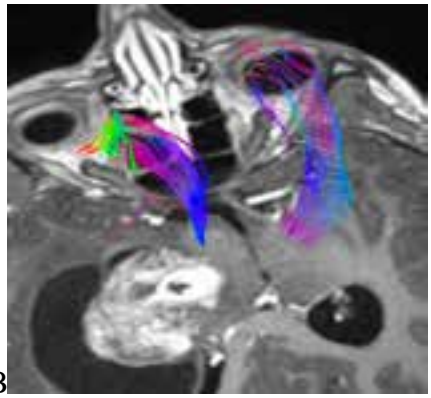
А  Б  В 

Рисунок 1. Примеры CSD-HARDI МР-трактографии. А – Гигантская нейробластома ЦНС, FOXR2-активированная (WHO Grade IV) левой лобно-височно-теменной области, КСТ со стороны опухоли истончен и смещен медиально; Б - пилоидная астроцитома (WHO Grade I) передних отделов таламуса слева, смещает КСТ дорсолатерально; В - пилоидная астроцитома (WHO Grade I), зрительного тракта слева, реконструкция КСТ демонстрирует смещение медиально.

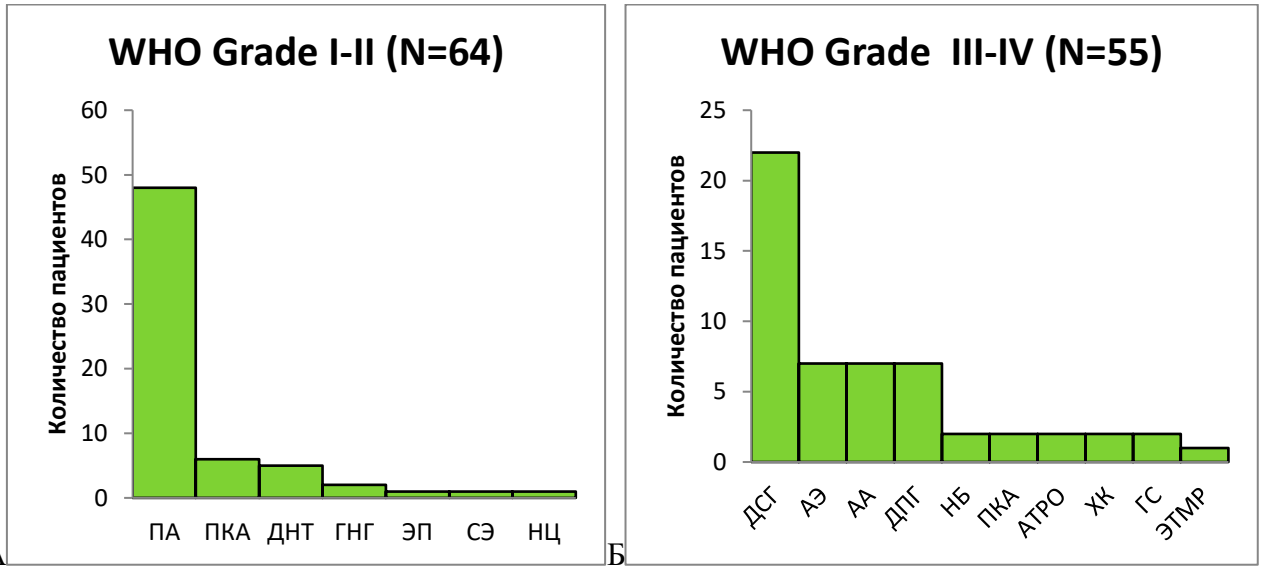
В зависимости от объема использованного мониторинга пациенты разделены на 3 группы: удаление опухолей без использования ИОМ проходило у 24 пациентов (20,1%); применение только ТК МВП у 28 пациентов (23,5%); применение ТК МВП и прямой стимуляции (моно- и биполярная) у 67 пациентов (56,3%). Транскраниальная стимуляция проводилась при помощи штопорных субдермальных электродов, расположенных в точках С3-С4 (по международной схеме Джаспера). На них подавался ток в виде пачек импульсов (train-4) длительностью от 0,5 до 1 мс. Амплитуда стимуляции варьировала в зависимости от уровня моторного порога (от 40 до 120 мА). Регистрировались моторные вызванные потенциалы (МВП) с мышц верхних и нижних конечностей (m.biceps/triceps brahii, m.tenar, m.rectus femoris/biceps femoris, m.gastrocnemius/m tibialis anterior), анализировалась динамика амплитуды ответов, их конфигурация и стабильность воспроизведения. Критерием значимых изменений считалось падение амплитуды ТК МВП более чем на 50% от исходного уровня. Прямую стимуляцию волокон кортикоспинального тракта в операционной ране проводили с использованием моно- или биполярных зондов (train-4) с интенсивностью от 1 до 25 мА. Регистрация МВП при прямой стимуляции проводилась с тех же мышц-мишеней, что и для ТК МВП.

В связи с разным топическим расположением опухолей неврологическая симптоматика была полиморфной, основным объединяющим и оцениваемым неврологическим дефицитом являлось снижение мышечной силы по стандартной шкале от 0 до 5 баллов.

Результаты

Из 119 пациентов, у 39 пациентов (32,8%) диагностированы полушарные опухоли в области моторной коры (опухоли центральных извилин (ЦИ) и гигантские опухоли (ГО)), у 80 пациентов (67,2%) – глубинные опухоли (опухоли таламуса (ПТ,МТ,ЗТ), таламопедункулярные опухоли (ТП), опухоли зрительного тракта (ЗрТ), распространенные опухоли подкорковой узлов (РОПУ)). В зависимости от возрастной группы пациенты разделены: 1-5 лет 33 детей (31%), 6-12 лет 49 детей (41%), 13-17 лет 37 детей (28%). Ниже представлены гистологические варианты опухолей (Рисунок 2) и гистология опухолей в различных анатомических вариантах в исследуемой группе в виде диаграмм (Рисунок 3).

Гистологическая структура



А Б

Рисунок 2. А – Спектр доброкачественных опухолей, WHO Grade I-II (абсолютные значения): ПА - Пилоидная астроцитома, ПКА - Плеоморфная ксантоастроцитома Gr-2, ДНТ - Дисэмбриопластическая нейроэпителиальная опухоль, ГНГ – Ганглиоглиома, ЭП – Эпендимома, СЭ – Субэпендимома, НЦ- Нейроцитома; Б – Спектр злокачественных опухолей, WHO Grade III-IV (абсолютные значения): ДСГ - Диффузная срединная глиома, АЭ - Анапластическая эпендимома, АА – Анапластическая астроцитома, ДПГ - Диффузная полушарная глиома, НБ – Нейробластома, ПКА - Плеоморфная ксантоастроцитома Gr-3, АТРО - Атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль, ХК – Хориоидкарцинома, ГС – Глиосаркома, ЭТМР – Эмбриональная опухоль с многоядерными розетками.

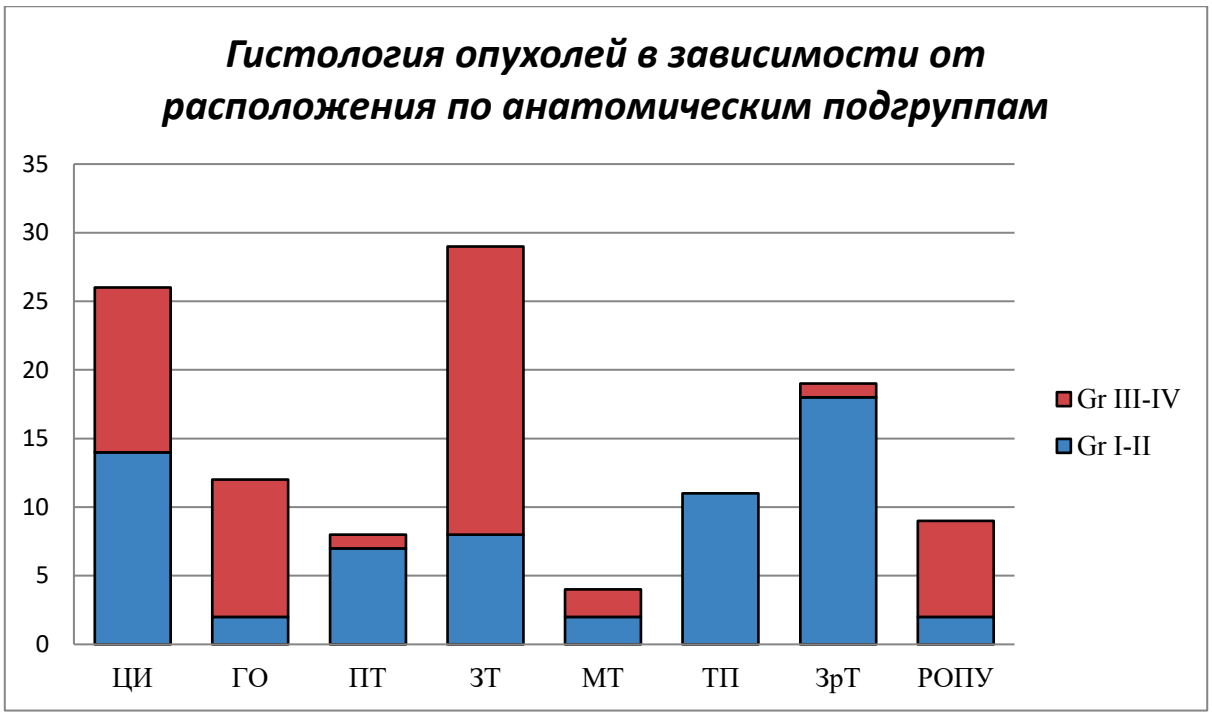


Рисунок 3. Гистология опухолей в зависимости от локализации опухолей (абсолютные значения). ЦИ-центральных извилин, ГО – гигантские опухоли, ПТ – передние отделы таламуса, ЗТ – задние отделы таламуса, МТ – медиальные отделы таламуса, ТП – таламопедункулярная область, ЗрТ – зрительный тракт, РОПУ – распространенные опухоли подкорковых узлов.

Гигантские опухоли больших полушарий, как правило имели, в основном злокачественную природу (83,3%), чаще наблюдались у детей раннего возраста до 5 лет (9 из 12 пациентов, 75%). Доброкачественные опухоли центральных извилин это компактные, часто глионейрональные, образования, проявляющиеся эпилептическими судорогами с развитием в постиктальном состоянии паралича Тодда. Злокачественный вариант этой анатомической группы – диффузные полушарные глиомы. Среди глубинных опухолей передних отделов таламуса, таламопедункулярных опухолях и опухолях зрительного тракта превалировали пилоидные астроцитомы. При опухолях подушки зрительного бугра и при распространенных опухолях подкорковых узлов преобладали диффузные астроцитомы (WHO Grade III-IV) (21 из 29 пациентов, 72%; 7 из 9 пациентов, 77,7%).

Дооперационная МР-трактография

45 пациентам (37,8%) была выполнена предоперационная МР-трактография. Во всех случаях удалось построить КСТ, за исключением одного пациента с глубинной опухолью. В этом случае построение КСТ выполнено с помощью CSD-HARDI МР-трактографии. В 9 случаях (20%) наблюдалось несоответствие клинических и нейровизуализационных данных. Наиболее частым

несоответствием являлось истончение пирамидного тракта по данным МР-трактографии при сохранных движениях у пациента. При опухолях центральных извилин смещение КСТ по контуру опухоли выявлено у 6 пациентов (46%), в таком же количестве случаев (46%) наблюдалось смещение КСТ кпереди, в 1 случае (8%) отмечена дислокация КСТ кзади от опухоли. В группе гигантских опухолей всегда наблюдалось смещение и расположение пирамидного тракта по всему свободному краю опухоли: при расположении опухоли ближе к средней линии пирамидный тракт был расположен по латеральному контуру (16%), при расположении опухоли ближе к конвекситальной поверхности - по медиальному контуру опухоли (68%), в одном случае пирамидный тракт был смещен кпереди (16%). Смещение КСТ при глубинной опухоли зависело от точной локализации опухоли. При опухолях передних и медиальных отделов таламуса пирамидный тракт смещается дорсолатерально, при опухолях таламопедункулярной области и задних отделов таламуса – вентролатерально, при опухолях зрительного тракта – преимущественно медиально.

Нами проведено сопоставление расположения КСТ по данным МР-трактографии и по данным ИОМ. Локус моторных ответов в 44 из 45 наблюдений соответствовал ходу КСТ при МР-трактографии. Клинический пример идентификации КСТ представлен ниже (Рисунок 4). В 1 случае стандартная МР-трактография не выстроила ход волокон, ТК МВП не регистрировались с начала операции и прямое картирование двигательных проводников не локализовало тракт в глубине раны (случай глубинной опухоли, упомянутый выше).

Радикальность операции

Радикальное удаление (тотальное при доброкачественных и околототальное при злокачественных) достигнуто в большинстве случаев (70,5%), субтотальная резекция достигнута в 20,1%, частичное удаление опухоли выполнено 11 пациентам (9,4%). Частота радикальных удалений была выше достигнута в группах доброкачественных отграниченных опухолей, WHO Grade I-II и составила 81% в группе. В зависимости от анатомической группы чаще радикально удалены полушарные опухоли. Радикальность операций была ниже при опухолях задних отделов таламуса (57%) и РОПУ (22%). Зависимость радикальности операции от возраста не отмечена. Проанализированы данные влияния использованного объема ИОМ на радикальность операции.

Процент радикальных удалений был выше в группе пациентов с использованием всего объема ИОМ и составил 85%. В подгруппах удаления опухолей только с ТК МВП и без мониторинга процент радикальных операций был ниже - 47% и 58% соответственно.

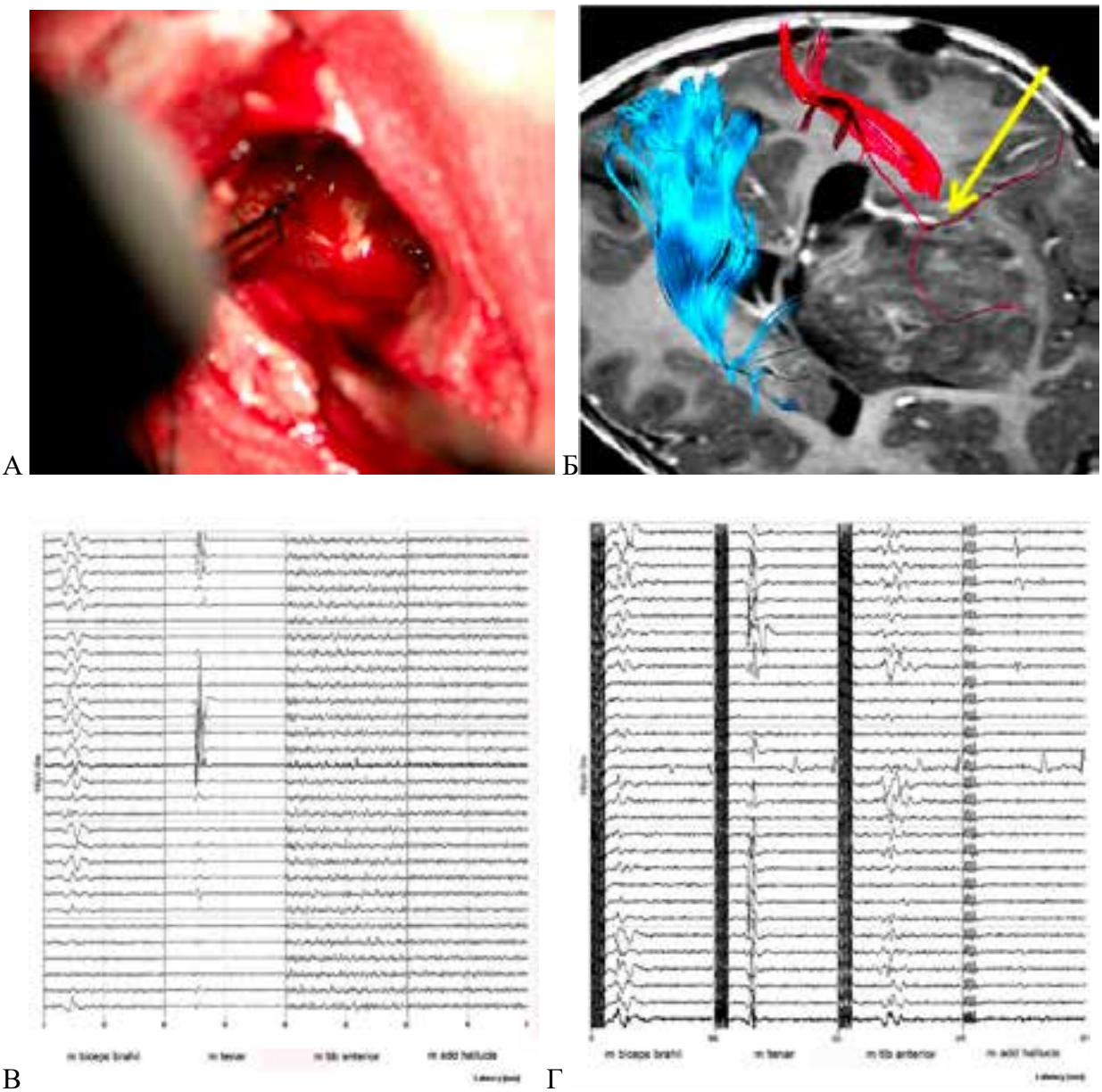


Рисунок 4. Пример удаления распространенной пилоидной астроцитомы подкорковых узлов, WHO Grade I. А – интраоперационное фото, субкортикальная прямая биполярная стимуляция КСТ; Б – предоперационная МР-трактография, Т1—последовательность с контрастным усилением в аксиальной проекции. Стрелкой указано место индентификации КСТ при прямой стимуляции; В – прямая биполярная субкортикальная стимуляция, ответы от руки на мощности тока 5 мА; Г - транскраниальные моторные вызванные потенциалы, стабильные в ходе удаления опухоли.

Неврологические исходы

Динамика мышечной силы в общей группе после операции была следующей: улучшение двигательных функций отмечалось у 32 пациентов (26,8%); дооперационный двигательный

статус наблюдался у 41 пациента (34,5%); временное нарастание дефицита с регрессом наросших двигательных нарушений ко дню выписки у 9 пациентов (7,6%); стойкий двигательный дефицит наблюдался у 37 пациентов при выписке (31,1%). Положительным исходом считалась как группа с улучшением двигательных функций, так и с двигательным статусом равным дооперационному, в связи с высоким процентом пациентов без дооперационного пареза (43,6%). Улучшение в раннем послеоперационном периоде отмечалось значимо больше в группе доброкачественных опухолей (66% против 34%). Зависимости ухудшения состояния от злокачественности опухоли отмечено не было.

Проанализированы неврологические исходы в зависимости от объема использованного ИОМ. В группе без использования ИОМ (n=24) в 59% случаев наблюдалось возникновение стойкого послеоперационного двигательного дефицита, при использовании только ТК МВП (n=28) стойкий дефицит отмечен в 39%. При использовании всего объема ИОМ (ТК МВП и прямая стимуляция КСТ, n=67) процент стойкого двигательного дефицита был низким (15%).

Обсуждение

При анализе литературы выявлена актуальность использования интраоперационного мониторинга, включающая ТК МВП и прямую стимуляцию КСТ у детей в настоящее время, которое влияет на сохранение функционального статуса при радикально проведенной операции. ИОМ является надежным и достоверным методом, однако в публикациях нет данных по детям раннего возраста (младше 5 лет). Описание особенностей ИОМ у детей скудные, сопоставление данных МР-трактографии и ИОМ отсутствует [19-24].

Также, имеется множество переменных, которые играют роль в «безопасном» удалении опухоли и послеоперационном двигательном статусе. К ним относится воздействие опухолью на пирамидный тракт, гистологический профиль, повторность хирургического лечения и сопутствующий глиоз, возраст пациентов, дооперационный функциональный статус. В нашем исследовании предоперационная МР-трактография и ИОМ успешно применялись у детей в любом возрасте, опухолями различной гистологической структуры и анатомического расположения опухоли. Сопоставления данных МР-трактографии и ИОМ в нашем исследовании показали высокую точность и подтверждают пользу комплексного использования обоих методов. Такой инновационный метод как CSD-HARDI МР-трактография позволил выстроить КСТ в случае невозможности реконструкции КСТ по данным стандартной МР-трактографии и отсутствии моторных ответов по данным ИОМ, что говорит о преодолении новых вершин в предоперационном обследовании детей.

Заключение

Использование всего объема ИОМ позволяет радикально удалять опухоли больших полушарий и подкорковых структур головного мозга, прилегающих к кортикоспинальному тракту у детей сохраняя и улучшая двигательные функции после операции. МР-трактография является высокоинформативным методом предоперационной подготовки детей с такими опухолями. Новейшие методы математической обработки данных трактографии (CSD-HARDI) могут оказаться единственным методом индентификации и сохранения пирамидного тракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Laws ER Jr. The decade of the brain: 1990 to 2000. Neurosurgery. 2000 Dec;47(6):1257-60. PMID: 11126897.
2. Wilke M, Holland SK, Myseros JS, et al. Functional magnetic resonance imaging in pediatrics. Neuropediatrics 2003;34:225–233. https://doi.org/10.1055/ s-2003-43260.
3. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS: Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: a meta-analysis. J Clin. Oncol 30:2559–2565, 2012.
4. Kombos T, Picht T, Derdilopoulos A, Suess O: Impact of intraoperative neurophysiological monitoring on surgery of high-grade gliomas. J Clin Neurophysiol 26:422–425, 2009.
5. Kombos T, Suess O, Ciklatekerlio O, Brock M: Monitoring of intraoperative motor evoked potentials to increase the safety of surgery in and around the motor cortex. J Neurosurg 95:608–614, 2001.
6. Neuloh G, Pechstein U, Cedzich C, Schramm J: Motor evoked potential monitoring with supratentorial surgery. Neurosurgery 54:1061–1072, 2004.
7. Neuloh G, Schramm J: What the surgeon wins, and what the surgeon loses from intraoperative neurophysiologic monitoring? Acta Neurochir (Wien) 147:811–813, 2005.
8. Karmakar DK, Badhe PV, Mhatre P, Shrivastava S, Sultan M, Shankar G, Tekriwal K, Moharkar S. Utility of Diffusion Tensor Imaging in Assessing Corticospinal Tracts for the Management of Brain Tumors: A Cross-Sectional Observational Study. Cureus. 2023 Oct 27;15(10):e47811. doi: 10.7759/cureus.47811. PMID: 38021806; PMCID: PMC10679788.
9. Wilke M, Groeschel S, Lorenzen A, Rona S, Schuhmann MU, Ernemann U, Krägeloh-Mann I. Clinical application of advanced MR methods in children: points to consider. Annals of Clinical and Translational Neurology. 2018;5(11):1434-1455. https://doi.org/10.1002/acn3.658
10. Byars AW, Holland SK, Strawsburg RH, et al. Practical aspects of conducting large-scale functional magnetic resonance imaging studies in children. J Child Neurol 2002;17:885–890.

11. Yerys BE, Jankowski KF, Shook D, et al. The fMRI success rate of children and adolescents: typical development, epilepsy, attention deficit/hyperactivity disorder, and autism spectrum disorders. Hum Brain Mapp 2009;30:3426–3435. https://doi.org/10.1002/hbm. 20767.
12. Баталов А.И., Афандиев Р.М., Захарова Н.Е., Косырькова А.В., Горяйнов С.А., Баев А.А., Пронин И.Н. Роль трактографии в хирургии опухолей головного мозга. Анатомические исследования в хирургии головы и шеи. Труды третьей научно-практической конференции. М.: ЗАО «Эдем»; 2022;38-44. Batalov AI, Afandiyev RM, Zakharova NYe, Kosyr'kova AV, Goryaynov SA, Bayev AA, Pronin IN. Rol' traktografii v khirurgii opukholey golovnogo mozga. Anatomicheskiye issledovaniya v khirurgii golovy i shei. Trudy tret'yey nauchno-prakticheskoy konferentsii. M.: ZAO «Edem»; 2022;38-44. (In Russ.).
13. Kupper H, Kudernatsch M, Pieper T, et al. Predicting hand function after hemidisconnection. Brain 2016;139:2456–2468. https://doi.org/10.1093/brain/aww170.
14. DouisH, JafriM, Sherlala K(2008) Bilateral thalamic glioma. Arch Neurol 65(12):1666–1667.
15. Seidel K, Schucht P, Beck J, Raabe A. Continuous Dynamic Mapping to Identify the Corticospinal Tract in Motor Eloquent Brain Tumors: An Update. J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg. 2020 Mar;81(2):105-110. doi: 10.1055/s-0039-1698384. Epub 2020 Jan 14. PMID: 31935786.
16. Shiban E, Krieg SM, Haller B, et al. Intraoperative subcortical motor evoked potential stimulation: how close is the corticospinal tract? J Neurosurg 2015;123(03):711–720.
17. Raabe A, Beck J, Schucht P, Seidel K: Continuous dynamic mapping of the corticospinal tract during surgery of motor eloquent brain tumors: evaluation of a new method. J Neurosurg 120:1015–1024, 2014.
18. Seidel K, Beck J, Stieglitz L, Schucht P, Raabe A: The warning-sign hierarchy between quantitative subcortical motor mapping and continuous motor evoked potential monitoring during resection of supratentorial brain tumors. J Neurosurg 118:287–296, 2013.
19. Beneš V 3rd, Zápotocký M, Libý P, Táborský J, Blažková J Jr, Blažková J Sr, Sumerauer D, Mišove A, Perníková I, Kynčl M, Krsková L, Koblížek M, Zámečník J, Bradáč O, Tichý M. Survival and functional outcomes in paediatric thalamic and thalamopeduncular low grade gliomas. Acta Neurochir (Wien). 2022 Jun;164(6):1459-1472. doi: 10.1007/s00701-021-05106-5. Epub 2022 Jan 19. PMID: 35043265.
20. Dorfer C, Czech T, Gojo J, Hosmann A, Peyrl A, Azizi AA, Kasprian G, Dieckmann K, Filbin MG, Haberler C, Roessler K, Slavc I. Infiltrative gliomas of the thalamus in children: the role of surgery in the era of H3 K27M mutant midline gliomas. Acta Neurochir (Wien). 2021 Jul;163(7):2025-2035. doi: 10.1007/s00701-020-04589-y.

21. Alluhaybi AA, Altuhaini KS, Soualmi L, Alotaibi F, Al Banyan A, Ahmad M. Thalamic Tumors in a Pediatric Population: Surgical Outcomes and Utilization of High-Definition Fiber Tractography and the Fiber Tracking Technique. Cureus. 2022;14(3):e23611. https://doi.org/10.7759/cureus.23611.
22. Kim JH, Phi JH, Lee JY, Kim KH, Park SH, Choi YH, Cho BK, Kim SK. Surgical Outcomes of Thalamic Tumors in Children: The Importance of Diffusion Tensor Imaging, Neuro-Navigation and Intraoperative Neurophysiological Monitoring. Brain Tumor Research and Treatment. 2018;6(2):60-67. https://doi.org/10.14791/btrt.2018.6.e14.
23. Lorenzen A, Groeschel S, Ernemann U, Wilke M, Schuhmann MU. Role of presurgical functional MRI and diffusion MR tractography in pediatric low-grade brain tumor surgery: a single-center study. Child's Nervous System. 2018;34(11):2241-2248. https://doi.org/10.1007/s00381-018-3828-4.
24. Kis D, Mate A, Kincses ZT, Vörös E, Barzo P. The role of probabilistic tractography in the surgical treatment of thalamic gliomas. Neurosurgery. 2014;10(suppl 2):262-272.
25. Henderson F, Abdullah KG, Verma R, Brem S. Tractography and the connectome in neurosurgical treatment of gliomas: the premise, the progress, and the potential. Neurosurg Focus. 2020 Feb 1;48(2):E6. doi: 10.3171/2019.11.FOCUS19785. PMID: 32006950; PMCID: PMC7831974.
26. Goryainov SA, Kondrashov AV, Gol'dberg MF, Batalov AI, Sufianov RA, Zakharova NE, Pronin IN, Gol'bin DA, Zhukov VY, Dobrovol'sky GF, Shelyakin SY, Vorob'ev VN, Dadykin SS, Potapov AA. Long association tracts of the human white matter: an analysis of 18 hemisphere dissections and in vivo HARDI-CSD tractography. Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko. 2017;81(1):13-25. English, Russian. doi: 10.17116/neiro201780713-25. PMID: 28291210.
27. Yang JY, Beare R, Seal ML, Harvey AS, Anderson VA, Maixner WJ. A systematic evaluation of intraoperative white matter tract shift in pediatric epilepsy surgery using high-field MRI and probabilistic high angular resolution diffusion imaging tractography. J Neurosurg Pediatr. 2017 May;19(5):592-605. doi: 10.3171/2016.11.PEDS16312. Epub 2017 Mar 17. PMID: 28304232.

МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНАЯ ХИРУРГИЯ СПОНДИЛОЛИСТЕЗОВ ПОЯСНИЧНО-КРЕСТЦОВОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

Н.А. Коновалов (Nikolay Aleksandrovich Konovalov), С.В. Иванов

Научный руководитель: член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор Коновалов Николай Александрович

Спондилолистез – это смещение или соскальзывание позвонка относительно нижележащего. Первое описание смещения позвонков принадлежит Herbinaux, бельгийскому акушеру, который заметил выпуклость костной ткани, препятствующей родоразрешению. Сам термин «спондилолистез» был предложен в 1853 году венским врачом H.F. Kilian [2, 4].

Совершенствование методик хирургического лечения больных с дегенеративными заболеваниями позвоночника на сегодняшний день является одним из приоритетных направлений в хирургии позвоночника [3].

Традиционный срединный доступ сопровождается кровопотерей, высокой травматичностью мягких тканей и паравертебральных мышц и, как следствие, стойкими послеоперационными болями из-за длительной мышечной тракции. В последнее время для хирургического лечения спондилолистеза применяется минимально инвазивная микрохирургическая техника, которая позволяет выполнить достаточный объем декомпрессии и стабилизации. Широкому распространению этой методики способствуют минимальная инвазивность и хорошие результаты лечения [5, 8].

При проведении анализа литературы, посвященной изучению хирургического лечения пациентов с спондилолистезом пояснично-крестцового отдела позвоночника, удалось сделать вывод о том, что данная тема остается дискутабельной и продолжает активно обсуждаться в современной мировой литературе. Также окончательно не определена роль минимально инвазивной микрохирургической технике в лечении спондилолистеза I степени в связи с отсутствием научных работ, в которых ее сравнивают с традиционным срединным доступом. Все изложенное выше и послужило основанием для выполнения нашего исследования [1, 9, 6, 7].

Цель исследования

Провести сравнительный анализ исходов хирургического лечения пациентов с спондилолистезом пояснично-крестцового отдела позвоночника с применением минимально инвазивных и традиционных методов лечения.

Задачи исследования

1. Описать особенности минимально инвазивной хирургической техники с использованием интраоперационного компьютерного томографа и навигационной системы при лечении спондилолистеза пояснично-крестцового отдела позвоночника.
2. Сравнить исходы хирургического лечения пациентов с спондилолистезом пояснично-крестцового отдела позвоночника с применением минимально инвазивных и традиционных методов лечения.
3. Проанализировать эффективность использования интраоперационных средств визуализации и системы навигации в хирургическом лечении спондилолистеза пояснично-крестцового отдела позвоночника.

Методы исследования

- Клиническое и неврологическое обследование
- Данные МРТ, КТ, функциональных спондилограмм
- Протоколы операций
- Набор шкал и опросников (VAS, Oswestry, GAS)
- Данные катамнестического наблюдения (через 3,6,12 месяцев)

Материал исследования

В исследование включены 104 пациента, которым было проведено хирургическое лечение по поводу спондилолистеза пояснично-крестцового отдела позвоночника.

В ходе исследования нами были сформированы две группы пациентов: I группа – пациенты, которым выполнялось хирургического лечения с применением традиционных методов лечения – 53 пациент; II группа – пациенты, которым выполнялось хирургического лечения с применением минимально инвазивных методов лечения – 51 пациент.

В исследование вошли 65 мужчин и 39 женщин.

Средний возраст наблюдаемых пациентов составил 59,85 года – от 18 до 84 лет.

Методы хирургического лечения стеноза пояснично-крестцового отдела позвоночника

Пациент получает общий наркоз (внутривенный плюс эндотрахеальный). Укладка пациента – на животе на рентгенпрозрачной раме Wilson. Уровень вмешательства определяется с помощью иКТ в режиме флюороскопии. Таргетные точки обозначаются путем установки самоклеящихся маркеров (Feducial Markers) с целью последующего выстраивания трехмерной

модели зоны оперативного вмешательства и настройки навигационной станции. За остистый отросток нижележащего позвонка крепится референсная рамка. Далее под контролем навигации на проекции кожи определяются точки ввода транспедикулярных винтов слева и справа. И затем выполняется разрез между двумя спланированными точками. Разрез обычно располагается на 3-4 см от средней линии, длина разреза – 2,5-3 см. Далее с применением интраоперационного микроскопа OPMI Pentero 900 (Carl Zeiss, Германия) выполняются декомпрессивная гемиламинэктомия, удаление гипертрофированной желтой связки и фасетэктомия с помощью высокоскоростного бора (Legend Medtronic, HiLAN XS) и костных кусачек Смита – Керрисона (Smith – Kerrison). Дуральный мешок и корешок отводятся к средней линии. Производится ревизия переднелатеральных отделов позвоночного канала (удаление грыж, кист фасеточных суставов, рубцов, спаек, коагуляция и удаление гипертрофированных эпидуральных вен). Вскрытие фиброзного кольца осуществляется микрохирургическим скальпелем. Удаляется содержимое межпозвонкового диска конхотомами и кюретками и выполняется подготовка промежутка для установки кейджа. В межтеловое пространство устанавливается дисковый дистрактор, и поэтапно осуществляется растяжение межтелового промежутка до достижения оптимальной высоты межтелового промежутка. Далее выполняется интраоперационное КТ-исследование и передача данных на станцию навигации. При помощи пробника по размеру межтелового промежутка с помощью навигационной системы подбирается кейдж. Размер межтелового импланта определялся интраоперационно на основании данных иКТ. Далее с помощью навигации, навигационного инструментария и под контролем микроскопа кейдж вводится в межтеловой промежуток, его положение контролируется в режиме реального времени. После этого фиксатор для кейджа (инсертер) извлекается. Мы использовали межтеловые импланты из материала PEEK «Capstone» фирмы Medtronic, которые заполняли измельченной костной крошкой, полученной в ходе доступа, или биосинтетической костной пастой «Reprobone».Затем выполняется установка транспедикулярных винтов (длина и диаметр вымерялась интраоперационно) навигационным инструментарием под контролем навигационной системы, после завершения которой выполняется контрольное КТисследование с 3D-реконструкцией.

Сравнительная характеристика длительности хирургического вмешательства

Группы пациентов	Длительность операции, мин
I группа	230,00
II группа	160,00

Сравнительная характеристика объема кровопотери

Группы пациентов	Объем кровопотери, мл
I группа	448,8
II группа	147,5

Сравнительная характеристика сроков госпитализации

Группы пациентов	Срок госпитализации
I группа	9,2
II группа	4,5

При анализе интенсивности болевого синдрома до операции по шкале ВАШ у пациентов обеих групп мы получили следующие данные. В I группе интенсивность болевого синдрома в поясничном отделе позвоночника составила 9,0 [9,00; 10,00] (p = 0,542), в ногах – 9,0 [9,00; 10,00] (p = 0,001). Во II группе интенсивность болевого синдрома в поясничном отделе позвоночника составила 9,0 [9,00; 10,00] (p = 0,542), в ногах – 9,0 [9,00; 10,00] (p = 0,001). На момент выписки в обеих группах пациентов отмечено статистически значимое уменьшение интенсивности болевого синдрома по ВАШ в поясничном отделе позвоночника и в ногах, сохраняющееся в отдаленном периоде. В раннем послеоперационном периоде у большинства пациентов отмечен полный или частичный регресс корешкового болевого синдрома уже в первые часы после операции. Ни у одного из пациентов не отмечено усиления болевого синдрома; сохранялись умеренные боли в области хирургического вмешательства, который был более выраженным в I группе пациентов.

Результаты

1) Применение методики декомпрессии нервных структур с межтеловой трансфораминальной и транспедикулярной стабилизацией межпозвоночного сегмента из минимально инвазивного парасагиттального доступа позволяет снизить риски послеоперационных осложнений, а также сократить время операции, объем кровопотери и сроки госпитализации.

2) Решение об оптимальном выборе метода хирургического лечения спондилолистеза пояснично-крестцового отдела позвоночника основывается на комплексном анализе клинического состояния пациента и данных методов нейровизуализации.

3) Применение предоперационного планирования, интраоперационной КТ и навигации повышают безопасность, обеспечивает точное планирование хирургического доступа, позволяет

оценить объем выполненной декомпрессии и точно выполнить межтеловую и транспедикулярную стабилизацию межпозвоночного сегмента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аганесов, А. Г. Реконструкция позвоночного сегмента при спондилолистезе поясничного отдела позвоночника / А. Г. Аганесов, К. Т. Месхи // Хирургия позвоночника. – 2004. – № 4. – С. 18–22.
2. Амин, Ф. И. Тактика хирургического лечения дегенеративнодистрофических заболеваний пояснично-крестцового отдела позвоночника у лиц пожилого и старческого возраста / Ф. И. Амин // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 2009. – № 2. – С. 40–47.
3. Борщенко, И. А. Спинальный поясничный дегенеративный стеноз: билатеральная декомпрессия из одностороннего доступа / И. А. Борщенко, С. Л. Мигачев, А. В. Басков // Нейрохирургия. – 2011. – № 1. – С. 54–60.
4. Ветрилэ, С. Т. Показания и особенности выбора тактики хирургического лечения поясничного остеохондроза с использованием транспедикулярных фиксаторов / С. Т. Ветрилэ, В. В. Швец, А. И. Крупаткин // Хирургия позвоночника. – 2004. – № 4. – С. 40–46.
5. Коновалов, Н. А. Новые технологии и алгоритмы диагностики и хирургического лечения заболеваний поясничного отдела позвоночника : дис. … докт. мед. наук : 14.01.18 / Коновалов Николай Александрович. – М., 2010. – 387 с.
6. Куценко, В. А. Классификация спондилолистеза Н. И. Хвисюка / В. А. Куценко, А. И. Продан // Хирургия позвоночника. – 2008. – № 4. – С. 72–74.
7. Мартынова, М. А. Сравнительный анализ исходов хирургического лечения пациентов с нестабильностью позвоночно-двигательного сегмента поясничного отдела позвоночника с применением технологий трансфораминального межтелового (TLIF) и прямого бокового спондилодеза 86 (DLIF) : дис. … канд. наук : 14.01.18 / Мартынова Мария Андреевна. – М., 2016. – 172 с.
8. Current status of lumbar interbody fusion for degenerative spondylolisthesis / T. Takahashi, J. Hanakita, Y. Ohtake [et al.] // Neurol. Med. Chir. (Tokyo). – 2016. – Vol. 56, № 8. – P. 476–484. – DOI: 10.2176/nmc.ra.2015-0350
9. Spondylolysis and spondylolisthesis: prevalence of different forms of instability and clinical implications / P. Niggemann, J. Kuchta, H. K. Beyer [et al.] // Spine (Phila Pa 1976). – 2011. – Vol. 36, № 22. – P. E1463–E1468. – DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181d47a0e

ПИЛОИДНЫЕ АСТРОЦИТОМЫ С АГРЕССИВНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ

Н.А. Коновалов, Ю.М. Полуэктов*

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

*+79164077570 yuripoul@gmail.com

Предпосылки: пилоидная астроцитома – является одной из самых распространенных опухолей центральной нервной системы (ЦНС). Пятилетняя выживаемость пациентов превышает 90% при условии радикального хирургического лечения, тем не менее, в некоторых случаях опухоль может иметь агрессивное клиническое течение, характеризующееся быстрым прогрессированием и ранним рецидивом заболевания.

Цель: охарактеризовать группу пациентов со злокачественным клиническим течением, сравнить анатомическую локализацию, демографические данные и индекс пролиферативной активности у пациентов с «обычным» и агрессивным течением заболевания.

Методы: в рамках ретроспективного исследования изучены медицинские карты взрослых пациентов (старше 18 лет) с гистологическим диагнозом «Пилоидная астроцитома». Проанализировано клиническое течение заболевания и собран 5ти летный катамнез пациентов, прооперированных в 2018 году в ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко. Было проведено сравнение анатомической локализации опухоли, демографических данных и индекса пролиферативной активности между группой «обычного» и агрессивного течения заболевания.

Результаты: было выявлено 19 пациентов с признаками агрессивного течения заболевания. Было установлено, что возраст пациентов между группами принципиально не различался, в группе агрессивного течения медиана составила 38 лет, в группе обычного – 35 лет.

В группе «обычного» течения превалировали пациенты женского пола.

Наиболее часто опухоль локализовалась мозжечке. Индекс пролиферативной активности (Ki-67) был несколько выше в группе агрессивного течения (7.4% ± 4.3 к 4.12% ± 1.6).

Было установлено, что высокий Ki-67 чаще встречался среди пациентов молодого возраста (до 30 лет). В ряде случаев в результатах гистологического исследования было указание на анапластическую морфологию при наличии признаков ПА, в связи с чем можно предполагать наличие злокачественной астроцитомы с пилоидными свойствами (HGAP) (введена в 2021 году (5ый пересмотр классификации опухолей ЦНС ВОЗ)).

Было установлено, что злокачественное течение чаще всего имеют взрослые пациенты, впервые оперированные в детском возрасте.

Вывод: Небольшой процент ПА склонен к агрессивному клиническому течению.

Следует настороженно относится к пациентам раннее оперированным по поводу ПА. Целесообразно провести крупные рандомизированные исследования, направленные на выявление факторов, характеризующих злокачественное течение ПА.

Внедрение молекулярно-генетических методов диагностики позволит достоверно отличать ПА от HGAP.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ЛАЗЕР-СПЕКЛ КОНТРАСТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ КРОВОТОКА В НЕЙРОХИРУРГИИ

А.Н. Коновалов, Ф.В. Гребенев, Д.Д. Ставцев, И.О. Козлов, Г.А. Пьявченко, Д.В. Телышев, А.А. Галястов, А.В. Горина, И.В. Меглинский, Д.Н. Окишев, Ю.В. Пилипенко, Ш.Ш. Элиава, В.С. Гаджиагаев, Е.В. Блинова

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, 4-я Тверская-Ямская ул, 16

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва

Использование методов контроля кровотока при нейрососудистых вмешательствах является обязательным условием для снижения послеоперационных осложнений. В настоящее время существует множество методов, зарекомендовавших себя высокой чувствительностью и специфичностью. Контактная допплерография, интраоперационная ICG-видеоангиография, ангиография с флуоресцином, флоуметрия, интраоперационные КТ-АГ, прямая ангиография и даже МРТ используются нейрохирургами во всем мире. Однако не существует метода, который мог оценивать наличие кровотока в сосудах головного мозга неинвазивно, без введения флуоресцирующих веществ на протяжении всего вмешательства.

Некоторые ученые оценивают лазер-спекл визуализацию (ЛСКВ) как перспективный метод интраоперационного контроля кровотока при нейрохирургических вмешательствах. При проведении ЛСКВ рассчитывается такой показатель, как спекл-контраст. Он количественно связан со скоростью движения частиц в заданном поле. Данный факт позволяет определить относительную скорость кровотока (по сути движения эритроцитов) в каждом пикселе заданного поля и, таким образом, создать цветное изображение, интенсивность цвета в котором будет характеризовать относительную скорость кровотока.

Существует множество исследований, подтверждающих уникальность и эффективность данного метода у животных с целью оценки перфузии головного мозга. Несмотря на то, что ЛСКВ метод был предложен относительно давно, в нейрохирургии

количество работ ограничено лишь несколькими сериями наблюдений. Одним из ограничений методики до недавнего времени являлась постобработка полученных данных, занимающая определенное время.

Целью данной работы являлась оценка эффективности метода Real-time ЛСКВ для контроля кровотока в стандартных ситуациях, встречающихся в цереброваскулярной хирургии, смоделированных на фантомных и животных моделях.

ИСХОДЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

О.О. Кордонская[1,2]*, В.М. Джафаров[1], В.В. Крылов[1,2]

[1]ФГБУ ФЦМН ФМБА России

[2]ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского», г. Москва

*Кордонская Ольга Олеговна, ФГБУ ФЦМН ФМБА России, врач-нейрохирург, г. Москва тел. 89175719139, dr.kochetkova@mail.ru

Цель: выделить основные факторы риска неблагоприятного исхода хирургического лечения и определить необходимый объем предоперационного обследования.

Материалы и методы. Согласно поставленным критериям включения и исключения в исследования из всей группы оперированных пациентов в исследование было включено 96 пациентов с височной фармакорезистентной эпилепсии.

Результаты. Средний возраст пациентов составил 30,8 ± 9,3 лет. Средняя длительность заболевания до проведенного хирургического лечения составила 18,4 (медиана 16 лет). Всем пациентам было выполнено длительное скальповое ЭЭГ мониторирование. Всем была выполнена переднемедиальная височная лобэктомия с амигдалогиппокампэктомией (АМГЛЭ).

У пациентов с МР позитивной эпилепсией результат резекционного хирургического лечения по шкале исходов хирургического лечения J. Engel (1993) был достигнут у 63,3%, у пациентов с МР негативной эпилепсией у 51,1%.

В ходе выполненного многофакторного анализа были выделены церебральные факторы риска сохранения приступов после резекционного хирургического лечения височной фармакорезистентной эпилепсии: интериктальная активность вне височной доли, ее двусторонняя локализация, более 4 зарегистрированных приступов на фоне отмены противосудорожной терапии за период мониторирования, локализация зоны начала приступа в левой височной доли. Согласно выявленным факторам риска был улучшен протокол предоперационного обследования. Независимая двувисочная интериктальная активность в сочетании с высокой частотой приступов являются прогностическим признаком битемпоральной эпилепсии, подтвердить которую можно только благодаря инвазивному видеоЭЭГ мониторированию и регистрацией более 5 приступов. Неинвазивные методы (ПЭТ МРТ/ПЭТ КТ) показали свою несостоятельность в данной группе пациентов. У пациентов с подозрением на «височную плюс» эпилепсию, наоборот, установка электродов согласно очагам гипометаболизма по ПЭТ позволяет выявить МР-негативные очаги. Данных подход позволил улучшить исход до 86%.

Выводы. Выделенные основные факторы риска позволяет улучшить исходы хирургического лечения пациентов с ФРЭ.

ТРЕХЛЕТНИЙ ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВНЕОРГАННЫХ ОПУХОЛЕЙ НАРУЖНОГО ОСНОВАНИЯ ЧЕРЕПА И ШЕИ, ВОВЛЕКАЮЩИХ СОСУДИСТО-НЕРВНЫЕ СТРУКТУРЫ

В.А. Лукьянчиков[1,2,3], Т.А. Шатохин[1,2,3], Д.Н. Решетов[3,4], З.А. Кулов[3*], Р.Н. Федотов[5], А.Л. Карагозян[6], В.В. Крылов[1,2,3]

[1]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет имени Н.И.Пирогова», Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1

[2]ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 129090 Москва, Большая Сухаревская пл., 3

[3]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80

[4]ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Кафедра онкологии и лучевой терапии, 129128, г. Москва, ул. Будайская, д. 2

[5]Клинический центр челюстно-лицевой, пластической хирургии и стоматологии МГМСУ им. А. И. Евдокимова, 127206, г.Москва, ул. Вучетича, д. 9а

[6]UNIклиник, 127349, г. Москва, ул. Мурановская, д.5

* Кулов Заурбек Аланович kulovza@mail.ru 8-988-836-42-57

Введение

Внеорганные опухоли наружного основания черепа и шеи, вовлекающие сосудисто-нервные структуры, являются своего рода вызовом для каждого хирурга, специализирующегося на данной патологии.

Причина этой особенности связана с высокими рисками повреждения сосудистых и нервных структур, с которыми взаимодействует опухоль, и вытекающими из этого осложнениями.

Стремление свести к минимуму частоту осложнений и добиться радикальности удаления новообразований, привело к разработке оптимальных методов хирургической тактики лечения данной кагорты пациентов.

Цель исследования

Представить результаты хирургического лечении опухолей наружного основания черепа и шеи, вовлекающих сосудисто-нервные структуры.

Материал и методы

За период наблюдения с августа 2020 года по декабрь 2023 года мультидисциплинарной бригадой хирургов было прооперировано 40 пациентов с опухолями наружного основания черепа и шеи, вовлекающих сосудисто-нервные структуры.

Результаты

Распределение по половому соотношению составило 58% (n=23) женщин и 42% (n=17) мужчин. Средний возраст пациента составил 47,2.

В 82,5% (n=33) выполнено тотальное удаление, в 17,5% (n=7) частичное удаление опухоли, с последующей адьювантной терапией.

В послеоперационном периоде у 16 пациентов отмечается возникновение различного рода неврологического дефицита, обусловленного в 62,5% (n=10) резекцией черепно-мозговых нервов вследствие прорастания опухоли из нервной ткани или из-за интимной спаянности нерва с капсулой опухоли и невозможности его сохранения; в 37,5% (n=6) по причине длительной тракции нерва.

Все прооперированные пациенты выписаны в удовлетворительном состоянии. У 56,25% (n=9) из 16 пациентов на момент выписки отмечается полный регресс неврологического дефицита, у 43,75% (n=7) пациентов сохраняется стойкий неврологический дефицит. Средний койко-день составил 7,5. Средняя продолжительность операции - 253 минуты. Средняя кровопотеря 207мл.

Заключение

Для сведения к минимуму осложнений со стороны нервной и сосудистой систем в хирургическом лечении внеорганных опухолей наружного основания черепа и шеи, вовлекающих сосудисто-нервные структуры, требуется тщательный подход, соответствующее предоперационное планирование, непрерывное оттачивание мануальных навыков, использование достижений современной медицины и поиск новых методик хирургического лечения.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЧРЕЗКОЖНОГО НЕВРОЛИЗА ПОД УЗ-КОНТРОЛЕМ

З.Х. Плиева[1,3]*, А.Г. Федяков[1,2], М.А. Разин[1,2], А.В. Басков[1,3], А.В. Горожанин[1,2]

[1] ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

[2] ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ»; Россия, 125284, Москва, 2 й Боткинский проезд, д. 5

[3] Клиника «ОртоСпайн»; Россия, 125252, Москва, проезд Березовой рощи д. 12

*zara.plion@mail.ru +79253858507

Введение

Компрессионно-ишемические нейропатии (КИН) являются актуальной проблемой современного здравоохранения в связи со своей высокой частотой встречаемости и большой социальной и экономической значимостью. В клинической практике зачастую встречаются случаи, когда имеются клинические признаки нейропатии, определяются начальные нарушения нервной проводимости по данным электронейромиографии, но при этом отсутствуют признаки компрессии нерва при ультразвуковом исследовании. Такие случаи, вызывают сложности в определении тактики лечения: с одной стороны имеются симптомы, снижающие качество жизни пациента, а возможности консервативной терапии исчерпаны, с другой – отсутствуют показания к хирургическому вмешательству ввиду отсутствия наружной компрессии нерва.

На кафедре нейрохирургии РМАНПО разработан новый метод малоинвазивного лечения – чрезкожный гидродинамический невролиз периферических нервов под ультразвуковым контролем (ЧНУЗ). В ходе вмешательства осуществляется освобождение периферического нерва от периневрального фиброза путем гидродинамической диссекции через прокол. Разработка и клиническое применение этого метода проводились с 2014 года. Метод чрезкожного невролиза периферических нервов под ультразвуковым контролем зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации.

Цель настоящего исследования – оценка эффективности и безопасности проведения чрезкожного невролиза периферических нервов под ультразвуковым контролем в лечении компрессионно-ишемических нейропатий.

Материал и методы

В исследование были включены 25 пациента в возрасте от 24 до 78 лет с различными ТН: 10 пациентов с карпальным туннельным синдромом, 8 – с кубитальным туннельным синдромом, 1 – с компрессионной нейропатией локтевого нерва на уровне канала Гийона, 2 пациента – с синдромом фибулярного канала, 4 пациента – с невромой Мортона. Показаниями

к проведению ЧНУЗ в данных случаях являлись: наличие симптомов раздражения (боль, парестезии), сенсорных выпадений и нейропатического болевого синдрома при отсутствии явлений денервации (гипо-, атрофии мышц) и значимой компрессии нервного ствола. У всех пациентов оценка болевого синдрома проводилась по визуальной аналоговой шкале (ВАШ; средний балл до проведения вмешательства составил 6,7) и опроснику нейропатической боли DN4 (сумма баллов варьировала от 4 до 7, средний балл – 5,1). В предоперационном периоде всем пациентам проводилось ультразвуковое исследование и ЭНМГ (кроме случаев с невромой Мортона). Минимальная продолжительность наблюдения каждого из пациентов составила 6 месяцев.

Результаты

После проведенных вмешательств отмечался положительный результат лечения у 20 пациентов в виде значительного (по меньшей мере на 50%) уменьшения интенсивности болей по ВАШ и регресса нейропатического болевого синдрома (менее 4 баллов по опроснику DN4), сопровождающегося улучшением качества жизни – нормализацией сна, повседневной деятельности, увеличением трудовой активности. У пациентов с синдромом кубитального канала отмечался регресс гипо-, анестезии в области иннервации локтевого нерва. У 2 пациентов проведенное вмешательство не имело клинического эффекта, однако не отмечалось и усугубления клинической симптоматики. Трем пациентам (2 с КТС и 1 с невромой Мортона) в последующем потребовалось хирургическое вмешательство. За время наблюдения не выявлено ни одного жизнеугрожающего осложнения, усиления болевого синдрома, появления или нарастания двигательного дефицита.

Заключение

Метод чрезкожного невролиза периферических нервов под ультразвуковым контролем является новым эффективным безопасным методом лечения ТН на начальной стадии заболевания в случае неэффективности консервативного лечения.

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ НЕВРОМЫ МОРТОНА

М.А. Разин[1,2], З.Х. Плиева[1], А.Г. Федяков[1,2], А.В. Кузнецов[1,2], О.Н. Древаль[1], А.В. Горожанин[1,2]

[1]ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; Москва Россия

[2]ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ»; Москва, Россия

Неврома Мортона (НМ) представляет собой компрессионную мононейропатию стопы, в основе которой лежит компрессия межпальцевого подошвенного нерва (МПН) метатарзальной связкой, что приводит к развитию фиброза указанного нерва, обуславливая возникновение нейропатического болевого синдрома. На сегодняшний день предложено множество методов лечения, которые можно разделить на следующие группы:

1. Консервативные;
2. Малоинвазивные инъекции и вмешательства;
3. Открытое хирургическое вмешательство – нейрэктомия;
4. Альтернативные хирургические вмешательства.

Консервативные методы зачастую являются малоэффективными, в связи с чем для достижения анальгетического эффекта требуется проведение более инвазивных методов. На сегодняшний день достоверной и высокой (по меньшей мере 80%) эффективностью обладает лишь открытая нейрэктомия. Также этот метод является единственным этиопатогенетически обоснованным. Однако, эффективность в ряде случаев других (прежде всего менее инвазивных) методов привела к созданию ступенчатого подхода к лечению НМ: от менее инвазивных методов – к более инвазивным. Главным недостатком такого подхода является отсутствие четких показаний для проведения того или иного способа лечения. Помимо этого, проведенные на ранних этапах вмешательства зачастую осложняют выполнение и снижают эффективность более инвазивных методов. Также следует отметить, что большинство предложенных альтернативных хирургических вмешательств, не являясь менее инвазивными в сравнении с открытой нейрэктомией, либо воздействуют лишь на одно из звеньев патогенеза НМ (различные виды декомпрессии и невролиза), либо вообще не имеют под собой патогенетического обоснования (остеотомия плюсневых костей, различные методики транспозиции МПН или нейрэктомия, дополненная реконструкцией нервного ствола). Таким образом рациональный выбор оптимального метода лечения НМ остается актуальной проблемой.

В настоящее время на кафедре нейрохирургии РМАНПО разрабатываются новые методы хирургического лечения НМ (чрезкожный невролиз под ультразвуковым

контролем – ЧНУЗ) и показания для выбора того или иного вмешательства на основании опыта более 100 проведенных операций. На ранних стадиях и при малом объёме невромы (позволяющем технически осуществить адекватный периневральный невролиз) предлагается проведение ЧНУЗ в возможной комбинации с локальным введением бетаметазона. Данный органосохраняющий метод сочетает в себе малую инвазивность, медикаментозное воздействие и хирургический подход (невролиз) без дополнительной травматизации мягких тканей. Для проведения радиочастотной деструкции (РЧД) НМ (по предварительно полученным данным) возможным критерием выбора этого вмешательства может быть объём невромы, составляющий менее 500 мм^3 (максимальный объём сферы эффективного воздействия электрода). Таким образом, РЧД может быть второй ступенью в лечении НМ. Наконец, в случае изначально большого объёма невромы (свыше 500 мм^3) и/или неэффективности менее инвазивных методов показано проведение открытой нейрэктомии из дорсального доступа.

Указанные критерии (полученные на основании предварительных данных) могут являться основанием для более рационального ступенчатого протокола лечения НМ, создание которого требует дальнейшего проведения клинических исследований.

ВЫБОР ТАКТИКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕЦИДИВОВ ГРЫЖ ДИСКОВ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА НА ОСНОВАНИИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ОЦЕНКЕ ФАКТОРОВ РИСКА

В.А. Чехонацкий[1], А.В. Кузнецов[1], А.В. Горожанин[1,3], Д.Ю. Усачев[1, 2]

[1]ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия

[2]ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия;

[3]ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ, Москва, Россия

Резюме. В современной литературы рецидивирование грыж диска на уровне поясничного отдела позвоночника отмечается в 5-10% случаев. Достоверно известно, что последующее нейрохирургическое лечение имеет больший риск травматизации невральных структур и меньший положительный эффект.

Введение. Современные авторы отмечают различные факторы риска развития рецидива грыжи диска, но часто данные различных исследователей противоречат друг другу, что указывает на необходимость комплексной оценки влияния различных факторов риска на вероятность развития рецидива грыжи диска [1,2,3,4].

Наиболее часто используемыми методами хирургического лечения рецидивов грыж на поясничном уровня при повторном вмешательстве являются повторная микродискэктомия и дискэктомия с травнспедикулярной фиксацией и межтеловой стабилизацией по методике PLIF, но рекомендаций класса «А» по выбору того или иного метода хирургического лечения в настоящий момент не существует, что диктует необходимость оценки течения интра-и послеоперационных периодов после данных методик для создания алгоритма выбора наиболее актуального метода лечения [5,6].

Цель исследования. Разработать способ выбора наименее травматичной тактики лечения рецидивов грыж диска на уровне поясничного отдела позвоночника, базирующийся на предоперационной оценке вероятности развития рецидива межпозвонкового диска по наиболее значимым факторам риска.

Материалы и методы. В исследование включены 120 пациентов (56 мужчин и 64 женщин) от 18 до 74 лет со средним возрастом 58±1,5 лет. Средний отслеживаемый катамнез 3,5±1,5 года. Выделены следующие группы: Группа I: 60 пациентов с рецидивами грыж дисков на уровне поясничного отдела позвоночника с радикулопатическим болевым синдромом, из которых 30 пациентам была выполнена повторная микродискэктомия без транспедикулярной фиксации позвоночно-двигательных

сегментов (группа Ia), а 30 пациентам выполнена повторная дискэктомия с последующей транспедикулярной фиксацией (ТПФ) позвоночно-двигательного сегмента с применением методики PLIF (группа Iб). Группа II: 60 пациентов с грыжами межпозвонковых дисков на уровне поясничного отдела позвоночника с радикулопатическим болевым синдромом, которым выполнена микродискэктомия без рецидива грыжи диска во время отслеживаемого катамнеза.

Критерии исключения: сочетание исследуемой патологии с дегенеративным стенозом позвоночного канала, спондилолистезом; наличиене стабильности поясничного отдела позвоночника на функциональных рентгенограммах.

Дизайн исследования: I этап–комплексная оценка прогностической значимости факторов риска (60 пациентов с рецидивом грыжи диска и 60 пациентов без развившегося рецидива) посредством оценки общеклинических (пол, возраст, индекс массы тела, сфера труда, курение, сахарный диабет, приверженность к лечению), лучевых (высота межпозвонковогодиска, люмбализация/сакрализация, Modic, Grogan, FO, FT, степень резекции фасеточного сустава) и биохимических факторов риска (IL-6, IL-8, MMP-8, TGF-b1, VEGF, MCP-1, Опг–данные показатели исследовались у случайно выбранных 20пациентов I группы и 20 больных II группы). II этап–сравнительный анализ результатов хирургического лечения рецидивов поясничных грыж диска при изолированной микродискэктомии (30пациентов) и дисэктомии с фиксацией PLIF+ТПФ (30пациент) посредством оценки длительности операции, объёма кровопотери, наличия ликвореи, лучевой нагрузки в интраоперационном периоде, послеоперационный период оценивался по шкалам Ваш через 2,4,6,8 и 12 недель после операции, NURICK, MACNAB, OSWESTRY через 6, 12, 24 и 36 месяцев после операции. III этап–разработка метода оценки вероятности развития очередного рецидива грыжи диска и формирование подхода к выбору тактики лечения рецидивов грыж диска межпозвонкового диска поясничного отдела позвоночника.

Оценка значимости общеклинических и лучевых факторов риска развития рецидива грыжи диска

В проведённом исследовании проанализирована прогностическая значимость общеклинических и лучевых факторов риска развития рецидива грыжи диска. В результате сравнительной оценки этих факторов у пациентов с развившимся рецидивом грыжи и у пациентов без рецидива, мы обнаружили, что возраст является важным прогностическим критерием. Возрастная группа от 40 до 60 лет (независимо от пола) имела существенные различия в частоте встречаемости рецидивов.

При оценке влияния курения на рецидив грыжи обнаружено, что статистически значимая частота встречаемости рецидива наблюдается только у курильщиков, которые курили более 5 лет одну или более пачку в день.

Анализ индекса массы тела выявил статистически значимое преобладание пациентов с I и II степенью ожирения по классификации ВОЗ среди тех, у кого развился рецидив грыжи диска, по сравнению с пациентами без рецидива.

Высокий уровень приверженности к выполнению рекомендаций врача был отмечен у 14,8% пациентов с рецидивом грыжи диска, в то время как у пациентов без рецидива этот показатель составил 69,8%.

Анализ тяжести физического труда показал, что в группе пациентов с рецидивом грыжи межпозвонкового диска преобладали пациенты, чья сфера деятельности оценивалась как среднетяжелая или тяжелая (85,3%), в то время как в группе без рецидива таких пациентов было только 41,2%.

Установлено, что у пациентов с рецидивом грыжи диска шестикратно чаще встречается компенсированный и некомпенсированный сахарный диабет I и II типа (12%), по сравнению с пациентами без рецидива (2%).

У большинства пациентов с рецидивом грыжи диска была сохраняющаяся после первой операции увеличенная высота межпозвонкового диска (70,5%), в то время как у пациентов без рецидива этот показатель составил 19%.

Изменения замыкательных пластинок тел позвонков типа Modic II-III были зарегистрированы у 68,8% пациентов с рецидивами, в то время как у пациентов без рецидива этот показатель составил 14,3%.

При анализе состояния дугоотростчатых суставов по классификации Grogan обнаружено, что при рецидиве грыжи межпозвонкового диска Grogan I был выявлен у 13,1% пациентов, Grogan II – у 29,5%, а Grogan III – в 44,2% случаев. В группе пациентов без рецидива грыжи диска частота встречаемости этих изменений не превысила 23,8%.

При проведении сравнительного анализа двух групп пациентов было обнаружено, что фасеточный тропизм (FT) и фасеточная ориентация (FO) распределились практически равномерно между группами. Это означает, что данные параметры не могут быть рассмотрены как прогностически значимые факторы риска для развития рецидива грыж. Таким образом, результаты анализа не подтверждают связь между FT и FO и вероятностью возникновения рецидива грыж. ($p>0,05$).

Оценка значимости иммунологических и биохимических факторов в развитии рецидива грыжи диска

Исследование прогностической значимости иммунологических и биохимических факторов в развитии рецидива грыжи диска показало, что показатели ИЛ-6, VEGF, MCP, TGF-β1, MMP8, ОПГ и TNF-a в сыворотке крови имеют наибольшую значимость ($p<0,05$). Сравнение данных показало, что в группе пациентов с рецидивом грыжи диска отсутствуют значительные различия в показателе ОПГ, что позволяет исключить его как фактор риска. Остальные показатели, такие как MMP8, TGFβ1, VEGF, ИЛ-6, MCP и TNFa, имеют статистически значимые ($p<0,05$) различия между группами пациентов с рецидивом и без него.

Дополнительно проведено исследование показателей в биоптате компримирующего невральные структуры агента. Результаты показали, что в этой группе пациентов также наблюдаются значительные различия в показателях MMP8, TGFβ1, VEGF, ИЛ-6, MCP и TNFa между пациентами с рецидивом и без него ($p<0,05$).

Коэффициент корреляции Спирмена показал, что наибольшая корреляция между показателями в сыворотке крови и биоптате компримирующего субстрата наблюдается в показателях VEGF, TGFb1 и MMP8. Были выделены следующие иммунобиохимические факторы риска развития рецидива: VEGF>3 142,75, MMP8>61,43 и TGF ß1>50 890,29. Эти значения являются пороговыми для определения риска развития рецидива грыжи диска.

Сравнительный анализ интра- и послеоперационного периода у пациентов с рецидивом грыжи диска на уровне поясничного отдела позвоночника после повторной изолированной микродисэктомии и дисэктомии с фиксацией

При сравнении результатов интра- и послеоперационного периода у пациентов с рецидивом грыжи диска на уровне поясничного отдела позвоночника после повторной изолированной микродискэктомии и дискэктомии с фиксацией отмечается, что в группе пациентов, которым была выполнена дискэктомия с фиксацией транспедикулярной системой и межтеловым спондилодезом по методике PLIF (30 пациентов) не было зарегистрировано повторных рецидивов грыжи межпозвонковых дисков, в то время как в группе с изолированной повторной микродисэктомией (30 пациентов) повторный рецидив был отмечен в 6,5% случаев.

При фиксирующем вмешательстве интраоперационная кровопотеря была в четыре раза выше, чем при изолированной микродискэктомии - 170±15 мл и 655±20 мл соответственно. Кроме того, длительность операции при дискэктомии с фиксацией была в 3,2 раза дольше, а время лучевой нагрузки в 6,1 раза больше. Гнойные осложнения были зарегистрированы в 3,3% наблюдений при комбинации со стабилизирующим вмешательством, в то время как при изолированной микродискэктомии они отсутствовали. Однако у 2 (6,5%) пациентов, которым была выполнена изолированная

микродискэктомия, имела место ликворея, в то время как в группе с фиксацией ликворея не наблюдалась.

Результаты оценки выраженности боли по шкале ВАШ показали, что количество пациентов, испытывающих болевые ощущения, через 4, 6, 8 и 12 недель после операции при изолированной микродисэктомии значительно меньше, чем при дискэктомии с фиксацией, что свидетельствует о более быстром регрессе болевого синдрома у пациентов без фиксирующего вмешательства.

Функциональная оценка состояния пациентов по модифицированной шкале Nurick показала, что в подгруппе с изолированной микродискэктомией полный регресс неврологической симптоматики был отмечен в 71% случаев на день выписки, в 80,5% через 6 месяцев и в 87% через 36 месяцев, в то время как в подгруппе с комбинированным лечением эти показатели составили 63,3%, 70% и 76,6% соответственно.

Анализ данных по шкалам Macnab показал, что через 6, 12 и 36 месяцев после операции по поводу рецидива грыжи диска в подгруппе с изолированной микродискэктомией к привычной работе вернулись 77,4%, 83,8% и 87% пациентов, в то время как в подгруппе с фиксацией 66,6%, 73,4% и 73,4% соответственно.

После проведение комплексной оценки прогностической значимости факторов риска развития рецидива грыжи диска на уровне поясничного отдела позвоночника, и разделением их на модифицированные и немодифицированные проведена разработка модели предоперационного прогнозирования вероятности развития повторного рецидива грыж диска на поясничном уровне.

Модель предоперационного прогнозирования развития повторного рецидива грыжи межпозвонкового диска на уровне поясничного отдела

В разряд немодифицируемых факторов, оказывающих весомое влияние на вероятность повторного возникновения грыжи межпозвоночного диска, включены: размер межпозвонковых дисков свыше 24,6 мм, наличие изменений типа Modic II-III спустя полгода, возрастная категория 40-61 год, классификация Grogan II-III, степень удаления фасеточных суставов, превышающая 75%, а также повышенные уровни молекулярных маркеров — «VEGF» выше 3 142,75, «MMP8» более 61,43 и «TGF ß1» свыше 50 890,**29.** Среди модифицируемых прогностически значимых факторов риска рецидива выделены: ожирение I-II степени, тяжёлая физическая нагрузка на работе (2-3 категория), курение в течение свыше 5 лет (с расчётом одна пачка в день), наличие сахарного диабета, низкий уровень соблюдения рекомендаций по лечению (менее 50% придерживаются назначений). Благодаря модификации теоремы Байеса разработана модель, позволяющая оценивать риск развития рецидива грыж межпозвонковых дисков, основываясь на двухмерной

диаграмме с перпендикулярными осями, где отслеживается соотношение количества модифицируемых и неизменяемых факторов риска после первой микродискэктомии в поясничном отделе позвоночника. В основу стратификации рисков положена методика, предложенная М.И. Ростовцевым в 2002 году. Модель предусматривает расчёты по горизонтали для модифицируемых факторов и по вертикали для неизменяемых; их точка пересечения индицирует предполагаемый уровень риска рецидива.

Надёжность метода была оценена на основе исследования, охватившего 31 пациента, выбор которых осуществлялся случайным образом из двух групп на протяжении двух лет. У двух пациентов оцениваемой выборки прогноз рецидива на уровне свыше 60% подтвердился, у семи вероятность колебалась в диапазоне 30-60%, и у 22 пациентов она была менее 30%. Фактические исходы совпали с прогнозом в группе высокого риска. Однако при вероятности от 30 до 60%, развитие рецидива подтвердилось лишь у троих, что указывает на расхождение прогнозов на 13,3%. В группе с прогнозируемым риском менее 30% рецидивы не были отмечены, что подтверждает точность метода. В свете этих данных и зафиксированного расхождения при прогнозе риска 30-60%, было принято решение объединить группы высокого и среднего риска в единую группу с повышенным риском. В таблице 1 представлена модель, позволяющая прогнозировать вероятность рецидива грыжи после первичной изолированной микродискэктомии без фиксации; при этом немаркированные клетки соответствуют низкому риску (менее 30%), а заштрихованные клетки указывают на высокий риск (свыше 30%, с учетом уточнения для среднего риска ввиду наибольшего расхождения при оценке).

Таблица 1. Модель для прогнозирования риска развития рецидива грыжи межпозвонкового диска поясничного отдела позвоночника после первой изолированной микродисэктомии без фиксации

С учётом полученных данных надежность предложенного метода прогнозирования вероятности развития рецидива грыжи межпозвонкового диска поясничного отдела

позвоночника составляет 86,7%.

Обсуждение. При оценке прогностической значимости различных факторов риска рецидива грыжи межпозвонкового диска поясничного отдела позвоночника после первой микродискоэктомии были выделены наиболее значимые факторы риска, которые можно разделить на модифицируемые и не модифицируемые. К не модифицируемым факторам относятся высота межпозвонковых дисков более 24,6 мм, Modic II –III, возраст 40-61 лет, Grogan II –III, степень резекции фасеточного сустава более 75%, уровень «VEGF»>3 142,75, уровень «MMP8»>61,43 и уровень «TGF ß1»>50 890,29. К модифицируемым факторам относятся ожирение I-II степени, тяжелые условия труда (2-3 категория), курение более 5 лет (1 пачка в день), сахарный диабет и низкая приверженность к лечению (менее 50%).

При анализе интра- и послеоперационный период установлено, что дискэктомия с транспедикулярной фиксацией имеет больший объем и длительность операции, а также более длительный период реабилитации, чем микродисэктомия без фиксации. У микродисэктомии без фиксации есть риск развития повторного рецидива грыжи диска и ликвореи, но операция имеет меньший объем и длительность, а также более быстрый период восстановления после операции.

Учитывая данные о прогностической значимости различных факторов риска, оценку интра- и послеоперационного периода двух наиболее распространенных тактик лечения рецидивов грыж диска, а также полученные результаты разработанной модели для предоперационного прогнозирования риска развития рецидива грыжи после первой изолированной микродискэктомии без фиксации предлагается способ выбора наименее травматичной тактики лечения рецидивов грыж диска на уровне поясничного отдела позвоночника, базирующийся на предоперационной оценке вероятности развития рецидива по наиболее значимым факторам риска, представленный на рисунке 1.

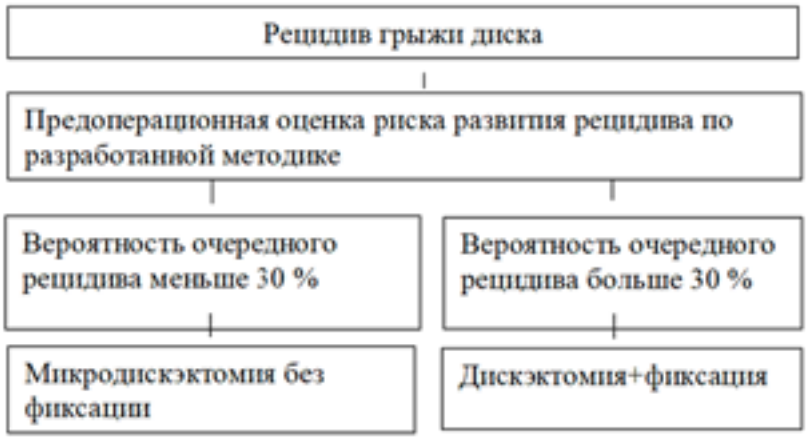


Рисунок 1. Алгоритм выбора тактики лечения рецидивов грыж диска на уровне поясничного отдела позвоночника

Заключение. После проведённого анализа выявлены ключевые клинические и рентгенологические показатели, связанные с повышенным риском развития осложнений: размер межпозвоночного диска свыше 24,6 мм, изменения по типу Modic II–III, возрастной диапазон 40-61 года, классификация Grogan II–III, уровень удаления фасеточного сустава более 75%, наличие ожирения I-II степени, тяжёлые условия работы (2-3 категории трудности), курение в течение более чем 5 лет (пачка в день), наличие сахарного диабета и низкий показатель приверженности лечебному процессу (менее 50%). Исследование иммунобиохимических показателей позволило установить статистически значимое увеличение данных параметров при рецидивах грыжи межпозвонковых дисков. Выявлена высокая корреляция между показателями в сыворотке крови и в биоптате, сжимающем нервные структуры. Определены их предельно допустимые значения: «VEGF» >3 142,75, «MMP8» >61,43, «TGF ß1» >50 890,29, что обеспечивает возможность предоперационного выявления данных факторов риска. Исследование также подтвердило, что дискэктомия с транспедикулярной фиксацией характеризуется увеличенным объемом и продолжительностью операции, а также более длительным восстановительным периодом, но при этом демонстрирует сниженную вероятность рецидивов и развития ликвореи по сравнению с повторной микродискэктомией без фиксации, которая, в свою очередь, несет высокий риск этих осложнений, но приводит к более короткому периоду реабилитации. Разработана методика оценки вероятности рецидивов грыж межпозвонковых дисков, опирающаяся на комплексный анализ модифицируемых и не поддающихся изменению факторов риска. Данный метод позволяет с точностью до 86,7% предсказать риск рецидива грыжи у конкретного пациента. На базе этого подхода предложен персонализированный алгоритм для выбора метода хирургического вмешательства при рецидивах грыжи дисков поясничного отдела позвоночника. Если вероятность рецидива составляет менее 30%, рекомендуется микродискэктомия без фиксации. В случае, когда риск превышает 30%, следует применять дискэктомию с транспедикулярной фиксацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чехонацкий В.А., Древаль О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий А.А., Захарова Н.Б., Гришина Е.А., Горожанин А.В., Волна В.В. Роль медиаторов воспаления, факторов роста и остеодистрофических процессов в развитии рецидивов грыж диска поясничного отдела позвоночника. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2023;17(2):36–42.

2. Чехонацкий В.А., Древаль О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий А.А., Горожанин А.В., Сидоренко В.В. Анализ результатов декомпрессивных и декомпрессивно-стабилизирующих операций у пациентов с однократными и повторными рецидивами грыж диска поясничного отдела позвоночника. Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова 2022; 1; 120-127.

3. Чехонацкий В.А., Древаль О.Н. Кузнецов А.В, Чехонацкий А.А., Басков А.В., Горожанин А.В. Патогенетические аспекты и факторы риска развития рецидива грыжи диска поясничного отдела позвоночника (обзор литературы). Хирургия позвоночника. 2021; 18 (1); 47-52

4. Чехонацкий В.А., Древаль О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий А.А., Горожанин А.В., Шестаков А.А., Сидоренко В.В. Современные принципы лечения рецидивов грыж межпозвонкового диска поясничного отдела позвоночника (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал. 2020; 3(16); 64-69.

5. Wang JC, Dailey AT, Mummaneni PV et al. Guideline update for the performance of fusion procedures for degenerative disease of the lumbar spine. Part 8: lumbar fusion for disc herniation and radiculopathy. J Neurosurg Spine. 2014; 21: 48-53.

6. Dower A, Chatterji R, Swart A, Winder MJ. Surgical management of recurrent lumbar disc herniation and the role of fusion. J Clin Neurosci. 2016; 23: 44-50.

КОРРЕЛЯЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ РЕЛАКСОМЕТРИИ И ДИФФУЗИОННО-КУРТОЗИСНОЙ МРТ В ДИФФУЗНЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

И.В. Чехонин*, А.И. Баталов, Э.Л. Погосбекян, А.Н. Тюрина, Н.Е. Захарова, И.Н. Пронин

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, 4-я Тверская-Ямская ул, 16, Москва, Российская Федерация, 125047

*e-mail: ivan.chekhonin@gmail.com, ivan-chekhonin@yandex.ru, ichekhonin@nsi.ru

Цель исследования: изучить взаимосвязь количественных показателей МР-релаксометрии и диффузионно-куртозисной МРТ в инфильтративно растущих глиомах головного мозга.

Материал и методы

В исследование были включены 19 пациентов с супратенториальными глиальными опухолями. У 10 пациентов была диагностирована глиобластома (grade 4), у 4 пациентов – астроцитома grade 3, у 3 пациентов – олигодендроглиома grade 3, у 2 пациентов – олигодендроглиома grade 2.

Протокол МРТ (3,0 Тл) включал стандартные анатомические МР-изображения до и после контрастного усиления, ASL-перфузию, диффузионно-куртозисные изображения (ДКИ) с тремя значениями фактора диффузии b – 0, 1000, 2500 с/мм^2. Также выполнялось нативное МР-релаксометрическое исследование MAGiC (Magnetic Resonance Image Compilation, МРТ 1,5 Тл).

Проводили измерение параметров ДКИ и МР-релаксометрии (времени T1, времени T2, протонной плотности – proton density, PD) в следующих областях интереса: в наиболее перфузируемой зоне (зона активного роста), в T2-FLAIR-гиперинтенсивной перифокальной зоне отёка-инфильтрации, в визуально интактном по данным стандартных МРТ белом веществе вблизи края зоны отёка-инфильтрации. Площадь областей интереса была в пределах 50 мм^2.

Параметры ДКИ включали: среднюю диффузию (MD), фракционную анизотропию (FA), куртозис – средний (MK), аксиальный (AK), радиальный (RK), куртозисную анизотропию (KA), а также параметры интегрированности трактов белого вещества – фракцию аксональной воды (AWF), диффузию – аксиальную экстрааксональную (AxEAD), аксиальную интрааксональную (AxIAD), радиальную экстрааксональную (RadEAD), радиальную интрааксональную (RadIAD), извитость экстрааксонального пространства (TORT).

Была изучена взаимосвязь показателей релаксометрии и ДКИ (метод Спирмена).

Результаты

В зоне активного роста глиом выявлены статистически значимые прямые корреляции между T1 и RadEAD (R=0,91, p<0,01), AxEAD (R=0,9, p<0,01), MD (R=0,7, p<0,01); между T2 и RadEAD (R = 0,93; p<0,01), AxEAD (R=0,89, p<0,01), MD (R=0,73, p<0,01), а также обратные корреляции между T1 и RK (R= −0,65, p<0,01), AWF (R= −0,68, p<0,01); между T2 и RK (R= −0,66, p<0,01), MK (R= −0,61, p<0,01), AWF (R = −0,71; p<0,01).

В перифокальной зоне отёка-инфильтрации отмечалась статистически значимые прямые корреляции между T1 и MD (R=0,74, p<0,01); между T2 и RadEAD (R = 0,78; p<0,01), AxEAD (R=0,64; p<0,01), MD (R=0,72; p<0,01); между PD и RadEAD (R=0,65, p<0,01), а также обратные корреляции между T1 и RK (R= −0,74, p<0,01), AK (R= −0,78; p<0,01), MK (R= −0,74, p<0,01), AWF (R= −0,71 , p<0,01); между T2 и AWF (R= −0,61, p<0,01).

В визуально интактном перитуморальном белом веществе отмечались статистически значимая прямая корреляция между T2 и RadEAD (R=0,67; p<0,01), а также тенденция к обратной взаимосвязи между T1 и KA (R= −0,58, p<0,01), PD и RK (R = −0,59; p<0,01).

Заключение

Выявленное многообразие прямых и обратных корреляций между данными МР-релаксометрии и ДКИ позволяют предположить возможность отражения релаксационными параметрами некоторых комплексных процессов, сопровождающих тканевую гидратацию, что может быть полезно с учетом меньшей (в 3-4 раза) длительности сканирования при МР-релаксометрии по сравнению с ДКИ.

Финансирование

Настоящая работа была выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-75-10074 (https://rscf.ru/project/22-75-10074/).

МР-МОРФОМЕТРИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ФОКАЛЬНОЙ КОРТИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИИ

А.М. Шевченко, Э.Л. Погосбекян, А.И. Баталов, Л.М. Фадеева, П.А. Власов, А.Г. Меликян, И.Н. Пронин

Цель исследования

Разработать оригинальный алгоритм МР-морфометрии для выявления фокальной кортикальной дисплазии. Определить диагностическую значимость метода МР-морфометрии в определении границ фокальной кортикальной дисплазии 1 и 2 типов, особенно при МР-негативной форме. Сравнить информативность метода МР-морфометрии с другими, рутинно используемыми методами в предоперационной подготовке больных с фокальной кортикальной дисплазией.

Материалы и методы

На основании совмещенных изображений МР-морфометрии у 42 пациентов с ФКД 1-го типа и 54 пациентов с ФКД 2-го типа, определить зависимость результатов данного метода в диагностике кортикальных мальформаций по отношению к исходам хирургического лечения.

Результаты

На основании использования программ FSL и FreeSerfer был разработан алгоритм МР-морфометрии. С его помощью были сгенерированы карты z-показателя размытия перехода серого и белого вещества и толщины коры.

Создан алгоритм автоматического обнаружения зон фокальной кортикальной дисплазии, на котором яркие участки мозга на z-картах являются признаками ФКД (утолщение коры и нарушение перехода серого и белого вещества).

Выявляемость ФКД 1 типа по данным МР-морфометрии составила 85%. Выявляемость МР-негативной формы ФКД 1 типа по данным МР-морфометрии составила 82%.

Выявляемость ФКД 2 типа по данным МР-морфометрии составила 94%. Выявляемость МР-негативной формы ФКД 2 типа по данным МР-морфометрии составила 77%.

Выводы

МР-морфометрия позволяет улучшить выявляемость ФКД, особенно у МР-негативных пациентов.

СПОСОБ РЕКОНСТРУКЦИИ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА АУТОГРАФТОМ

А.Н. Шкарубо[1], А.А. Огурцова[1], З.Ф. Якупова[2,4], А.В. Ревищин[3], Л.В. Шишкина[1], И.Н. Пронин[1], И.В. Чернов[1], Г.В. Павлова[1,3], А.Е. Подопригора[1], М.А. Шкарубо[1], М.Е. Синельников[4], А.Я. Величко[5], В.Н. Николенко[4,5]

[1]ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

[2]Российский Университет Дружбы Народов им.Патриса Лумумбы

[3]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

[4]Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России

[5] Московский государственый университет им. М.В.Ломоносова

Введение

Нейрохирургические вмешательства и травмы являются распространенными причинами повреждения зрительного нерва. Это определяет актуальность исследований, направленных на восстановление анатомической целостности нерва, его электропроводности и его функции.

Цель исследования

Восстановление поврежденного (разрезанного) зрительного нерва с помощью аутотрансплантата n. suralis in vivo.

Материалы и методы

Эксперимент включал в себя реконструкцию зрительного нерва путем коррекции повреждения, установки трансплантата, извлечения и оценки восстановленного нерва. Реконструкция повреждения включала удаление фрагмента зрительного нерва. Забор и вшивание аутотрансплантата включали резекцию фрагмента икроножного (чувствительного) нерва и последующее наложение анастомоза на место удаленного фрагмента зрительного нерва. В качестве экспериментальной модели использовали кролика породы “Бургундия”

Результаты

Через четыре месяца после операции была проведена прижизненная магнитно-резонансная томография, которая подтвердила анатомическую целостность комплекса трансплантат-зрительный нерв оперированного глаза. Дополнительно была проведена повторная

прижизненная регистрация ВЭП, которая показала, что компоненты ВЭП были сохранены. При стимуляции оперированного правого глаза регистрировались компоненты низкой амплитуды, измененные по форме. Таким образом, были замечены признаки восстановления электропроводности оперированного зрительного нерва.

Вывод

Наш первоначальный опыт показывает техническую осуществимость реконструкции зрительного нерва с помощью аутотрансплантата, возможность роста аксонов через трансплантат и, в будущем, использования этого метода для прямой реконструкции зрительного нерва при различных опухолевых заболеваниях зрительного нерва, опухолях хиазмально-селлярной локализации, повреждения орбиты.

ОРГАНИЗАЦИЯ И ЦИФРОВИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Семашко Николай Александрович (1874–1949)

«Здоровье – это самое ценное, что есть у человека»

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ДАННЫХ SARS-COV 2 И РАЗРАБОТКА ПАЙПЛАЙНА ПРЕДСКАЗАНИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПОДЪЕМА И ОЦЕНКИ ОЖИДАЕМОЙ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ НА ПРИМЕРЕ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Д.Н. Агабалаев[1], К.Ф. Хафизов[1], Д.И. Вахитов[2], С.А. Рыкалина[2]

[1] ЦНИИ Эпидемиологии

[2] Тюменский Государственный Университет

Аннотация

Определением новых эпидемических подъёмов и их тенденции приоритетная задача для принятия своевременных мер противодействия. В данной работе были проанализированы нуклеотидные данные SARS-CoV-2 со всей России от 2020 до нынешнего времени. На примере выборки из Саратовской области оптимизирован пайплайн обработки данных, проанализированы закономерности мутаций N и S белков, сопоставлено мутаций с эпидемической статистикой для определения корреляций. На основе полученных данных были разработаны уравнения эпидемических моделей для прогнозирования тенденций.

Введение

За период с 2020 по нынешнее время было множество эпидемических подъёмов, которые было сложно предсказать. Из-за их внезапности сложно было предпринять своевременные действия. Согласно данным официальной статистики, предоставляемой Министерством Финансов РФ, пиковые значения смертности всегда сопоставимы с вспышками вызванные появлением нового штамма. Предсказание появление нового штамма — это комплексная и крайне сложная задача ввиду непредсказуемости возникновения мутаций, их закрепления и дальнейшего влияния на контагиозность и вирулентность.

Существует множество работ по математической обработке эпидемиологической статистике и предсказания развития эпидемического процесса [1][2][3]. В данной работе, пользуясь существующими математическими моделями в разных областях эпидемиологии и медицины, мы провели математические модели для прогнозирования распространения нового штамма с учетом его вирулентности, инкубационного периода, патогенности, неоднородности социума и географии, на основе гипотезы о том, что обнаружение сразу нескольких мутантных версий филогенетически отдалённых от остальных параллельно существующих субтипов с мутациями в S и M генах, может служить маркерам смены тенденции к значительному увеличению количества заражений [4] [5].

Подтверждение данной гипотезы и получения рабочих пайплайнов для обработки данных и прогнозирования подобных тенденций может послужить незаменимым подспорьем в работе здравоохранительных служб в борьбе с эпидемиями.

Материалы и методы

Для сбора материала, у пациентов брались мазки из носа, которые в последствии транспортировались на холоде в лабораторию. В лаборатории метагеном выделялся стандартным набором РИБО-преп согласно мануалу набора. После выделения, секвенирование производили методами NGS секвенирования так же в центральном НИИ эпидемиологии.

Полученные данные последовательностей SARS-CoV-2 анализировались с применением программного обеспечения Unipro UGENE, MEGA 11 и Swiss PDB Viewer, а также сервисов открытого доступа NCBI Blast и SWISS-MODEL. Так же для анализа данных использовались собственные разработки на основе языков программирования C# и Python.

Для создания пайплайн анализа мутаций и моделирования развития эпидемической картины так же использовались программное обеспечение Docker. Для него использовался «контейнер» nf-core/eager, выложенный в свободный доступ, и были доработан собственными программными разработками.

Результаты исследования и обсуждение

На основе данных предоставленных лабораторией геномных исследований центральным НИИ Эпидемиологии полногеномных последовательностей SARS-COV 2 по всей территории Российской Федерации, была отобрана выборка по городу Саратов для проверки гипотезы. На основе отобранных по месту забора в городе Саратов полногеномных последовательностей было построено филогенетическое дерево с расчетом ближайшего последнего общего субтипа, для анализа отличий между ними.

Было обнаружено три последовательности с уникальными мутациями в S и M имеющими наибольшую дистанцию относительно последнего общего предкового субтипа, как представлено на рисунке 1. Две из них в феврале и одна в марте 2023 года. Анализируя статистику заражений в городе Саратов за тот же период времени, было обнаружено, что появление подобных вариантов с мутациями S и M в одном временном промежутке соответствует старту тенденции к подъему заражаемости, как представлено на рисунке 2, что так же обнаруживалось на выборке и Красноярска в 2022 году. Данный эффект можно объяснить тем, что именно данные белки ответственны за то, чтобы скрываться от обнаружения иммунной системой носителя и проникновения в клетки, и изменение их структуры приводит к частичному сбросу эффективности наработанного ранее иммунитета против существовавших субтипов.

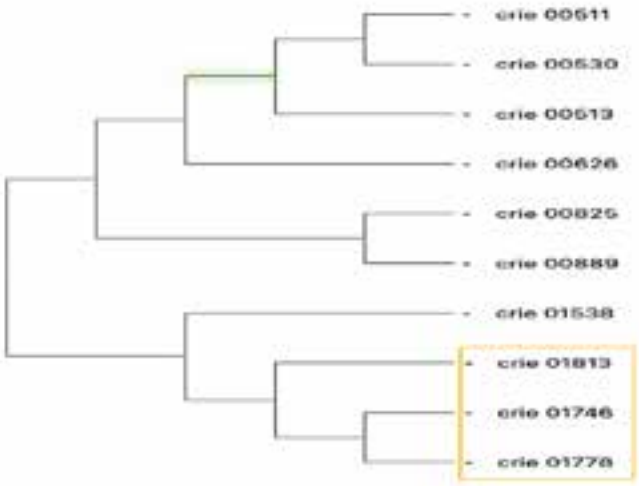


Рисунок 1. Филогенетическое дерево полных геномов из Саратова по месту забора. Зеленым квадратом отмечено мсетоположение последнего общего предка для всех последовательностей. Желтым квадратом отмечены последовательности в которых были обнаружены мутации S и M белков.

Рисунок 2. Статистика обнаружения мутаций в S и M белках относительно статистики количества заражений в феврале 2023 года в Саратове [6]

Согласно смоделированным предсказаниям структуры данных белков на основе мутаций с сравнительным анализом относительно подтвержденных моделей данных белков для SARS-COV 2, как представлено на рисунке 3, можно отметить что мутации могут привести к конформационным изменениям, которые незначительны для функционирования белков, но способны снизить аффинность антител носителя к вирусу, позволяя ему вновь заражать уже переболевших.

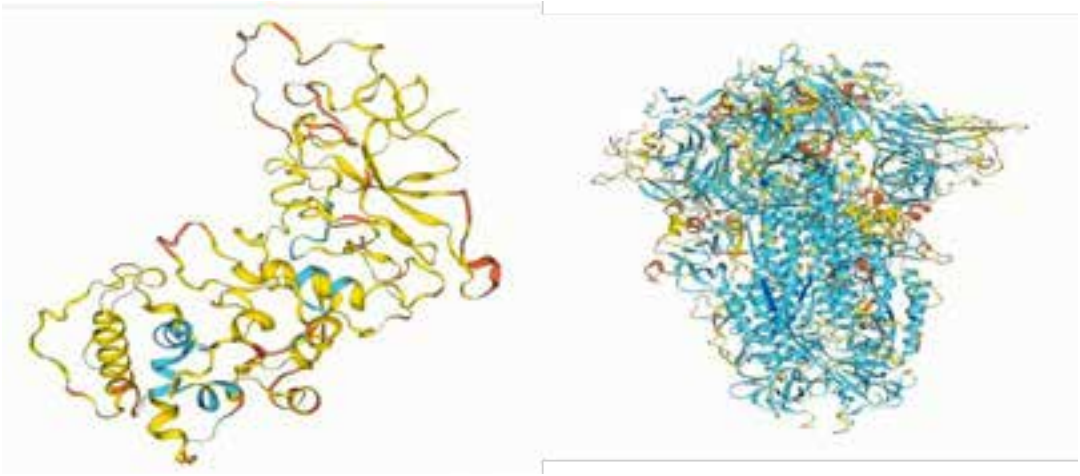


Рисунок 3. Модели M (слева) и S (справа) белков соответственно, основаные на обнаруженных мутациях в полных геномах в саратовской области. Синим отмечены стабильные участки, желтым и красным отмечены участки на структуру которых мутации окажут структурное напряжение.

На основе усовершенствованных моделей SIER [7][8], учитывающих больше переменных факторов, таких как инкубационный период, прогназируемые количества незарегестрированных случаев болезни относительно зарегестрированных, а так же на основе работ Алексея Алексеевича Романюха по расчету протикания болезни в носителе, старения имунитета, и прогнозе распространения с учетом данных факторов вируса в социуме[9] были написаны програмные моедли прогноза тенденций эпидемической ситуации. За входные данные были взяты известные статистические данные по тенденции в городе Сратов и построены прогназируемые тенденции, как представлено на рисунке 4. Как можно заметить, изначально тенденция прогнозируемая близка к реальной, но после месяца наблюдается расхождение: прогназируемая тенденция продолжает расти в то время как реальные данные говорят о том, чтоколичество заражений пошло на спад. Это обсулавливается тем, что модель не учитывала факторы противодействия распространения, такие как локдаун и масочный режим. Добавив в

моделируюмую систему данный фактор, мы получаем второй вариант модели, который намного ближе описывает то, что мы наблюдали в реальности, как представлено на рисунке 5. Более резкие перепады прогназируемой тенденции и реальной можно объяснить тем, что сложно прописать «человеческий фактор» обуславливающий в реальности то, что не все люди сразу полностью начинают придерживаться правил масочного режима и локдауна, а так же система пока не способна учитывать сеззонные факторы, на смену котоых так же пришлась данная смена тенденций.

Рисунок 4. Ожидание тенденции без вмешательства

Рисунок 5. Ожидание тенденции с введением локдауна и масочного режима

Заключение

Использования индекса контагиозности как стохастический (случайные) элемент в програмировании модели предсказания тенденции эпидемического процесса позволяет приблизить значения предсказаний к реально наблюдаемым. Для повышения точности предсказаний необходимо дополнять систему уровнений элементами расчета изменения степени контагиозности в ходе течения болезни. Так же необхо учитывать социальные процессы и то, сколько людей потенциально способно быть заражено от инфецированного. Для расчета предполагается использование многомерных интегралов и высокоматематических методов для представления потенциального количества людей которых могут заразить инфицированные как объем пересечения поверхности сферы внутри шара с переменным радиусом.

Так же стоит отметить потенциальную возможность моделирования протеинов патогена при мутации гена для предсказания изменений в его контагиозности и вирулетности на основе изученых влияний мутаций на данные показатели ранее. Данная работа в дальнейшем поможет приблизить возможность появления опасных штаммов до их реального появления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kim AS-K. AAEDM: Theoretical dynamic epidemic diffusion model and Covid-19 Korea pandemic cases.: medRxiv. 2020. https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037838.
2. Kuniya T. Prediction of the epidemic peak of coronavirus disease in Japan.: J Clin Med 2020 ;9(3):789.
3. Shah PV. Prediction of the peak, effect of intervention, and total infected by COVID-19 in India. Disaster Med Publ Health Prep. 2020 https://doi.org/10.1017/dmp.2020.321.
4. Zhang Z, Wang H, Wang C, Fang H. Modeling epidemics spreading on social contact networks. IEEE Trans Emerg Top Comput. 2015 ;3(3):410–9.
5. Ding W, Wang QG, Zhang JX. Analysis and prediction of COVID-19 epidemic in South Africa. ISA Trans. 2021. https://doi.org/10.1016/j.isatra.2021.01.050.
6. Worldometers. COVID-19 Coronavirus pandemic. https://www. worldometers.info/coronavirus/#countries.
7. Peng L, Yang W, Zhang D, Zhuge C, Hong L. Epidemic analysis of COVID-19 in China by dynamical modeling.: medRxiv. 2020 https://doi.org/10.1101/2020.02.16.20023465.
8. Batista M. Estimation of the final size of the coronavirus epidemic by the SIR model.: University of Ljubljana, Slovenia. 2020. ResearchGate. https://doi.org/10.1101/2020.02.16.20023606.
9. Романюха А.А.. Математические модели в иммунологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний.: Москва БИНОМ, Лаборатория знаний 2011

ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ СТРАТЕГИИ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ЛЮДЕЙ И АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ: ПРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Д.С. Алексинский[1], В.С. Сараева[1], Н.Н. Нежкина[1], С.В. Соколовская[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, Ивановская область, г. Иваново

[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского" (ННГУ). Российская Федерация, г. Нижний Новгород

Аннотация

***Обоснование*:** на протяжении нескольких десятилетий в мире наблюдается рост численности и доли пожилых людей, в то время как число детей и молодежи начало снижаться.

Ожидается, что к 2050 году число людей в возрасте 65 лет и старше удвоится, и превысит 1,6 миллиарда человек. Генеральная Ассамблея Организации Объединенных Наций (ООН) провозгласила период 2021–2030 гг. Десятилетием здорового старения, в рамках которого специалисты многих стран занимаются поиском путей продления активного долголетия. Стратегический проект ННГУ «Здоровое поколение» изучает данный вопрос с точки зрения психологических, психофизиологических и социальных аспектов с целью создания комплекса мер, направленных на привлечение максимального количества людей к регулярным занятиям физической активностью, которая является основой повышения качества жизни пожилых людей.

***Цель исследования*:** оценить сопряженность полиморфизмов ряда метаболических генов с гемодинамическими показателями нагрузочного тестирования и вегетативного гомеостаза у пожилых людей для создания персонифицированной стратегии по сохранению качества жизни и обеспечению активного долголетия.

***Методы*:** в ходе реализации данного неконтролируемого, открытого, обсервационного, проспективного исследования в популяции реальной практики был проведен анализ психо-функционально-метаболического статуса 184 человек (средний возраст 67 лет). Для определения генетической детерминированности физической работоспособности пожилых людей по функциональным показателям, нами был оценен их исходный вегетативный тонус по методике Вейна, физические возможности по тесту 6-минутной ходьбы и проанализированы образцы генетического материала.

***Результаты*:** анализ распределения обследуемых пожилых людей в зависисмости от типа исходного вегетативного тонуса выявил в половине случаев парасимпатикотонию, у каждого

пятого определялась симпатикотония, а в 30% случаев – эйтония. Среднее значение пройденной дистанции по тесту 6-минутной ходьбы составило 422,4 [409,1-435,8] м 95% ДИ. Из тех, кто выполнил тест, лишь 30,6 % прошли дистанцию, считающуюся нормальной для данной возрастной группы. Таким образом, физические возможности 2/3 испытуемых можно признать сниженными. Установлено, что имеет место генетическая детерминация исходного вегетативного тонуса. Выявлено, что ваготония и симпатикотония у обследованных людей сопряжены с полиморфизмами всех оцениваемых генов, причем наиболее выраженной эта тенденция была для гена синаптотагмина и гена трансаминазы 1 аминокислот с разветвленной цепью.

***Заключение*:** выявлена генетическая детерминированность исходного вегетативного тонуса человека, что позволяет использовать его для разработки индивидуальной программы двигательной активности.

Ключевые слова: генетическая детерменированность, пожилые люди, исходный вегетативный тонус, физическая активность

APPROACHES IN CREATION OF PERSONALIZED STRATEGY FOR PEOPLE'S QUALITY OF LIFE IMPROVING AND ACTIVE LONGEVITY: PROSPECTIVE STUDY

D.S. Alexinskiy[1], V.S. Saraeva[1], N.N. Nezhkina [1,2], S.V. Sokolovskaya[2]

[1]Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Ivanovo State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation. Russian Federation, Ivanovo region, Ivanovo.

[2]National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod. Russian Federation, Nizhny Novgorod

Abstract

Background: as for several decades now, there has been an increase in the number of elderly dependence ratio, while the number of children and youth in the world has begone to decrease.

It is expected that people aged 65 and older will be twice as more as it they are now and will exceed the number of 1.6 billion by year 2050. The United Nations (UN) General Assembly has declared the period of 2021-2030 as the decade of healthy aging. During this period, specialists from many countries are searching for ways to extend active longevity. The strategic project of the National Research Nizhny Novgorod State University "Healthy Generation" studies this issue from the point of view of psychological, psychophysiological and social aspects, with the aim to create a remedies aimed at a large number of people to engage in regular physical activity , which is the basis for improving the quality of life of older people.

Aims: to evaluate the association of polymorphisms of a number of metabolic genes with hemodynamic indicators of stress testing and autonomic homeostasis in elderly people to create a personalized strategy for maintaining quality of life and ensuring active longevity.

Materials and methods: During the implementation of this uncontrolled, open, observational, prospective study in real practice, an analysis of the psycho-functional-metabolic was analyzed status of 184 people (average age 67 years). To determine the genetic determination of the physical performance of older people in terms of functional indicators, we assessed their initial autonomic tone using the Wayne method, their physical capabilities using the 6-minute walk test, and analyzed samples of genetic material.

Results: A distribution analysis of the examined elderly people, depending on the type of initial autonomic tone, revealed parasympathicotonia in half the cases, sympathicotonia in every fifth case, and eutonia in 30% of cases. The mean value distance traveled according to the 6-minute walk test was 422.4 [409.1-435.8] m, 95% CI. Only 30.6% of those, who completed the test by complete the whole distance, considered normal for this age group. Thus, the physical capabilities of 2/3 of the subjects can be considered reduced. It has been established that there is a genetic determination of the initial vegetative tone. It was revealed that vagotonia and sympathicotonia in the examined people are associated with polymorphisms of all genes assessed, and this trend was most pronounced for the synaptotagmin gene and the branched chain amino acid transaminase 1 gene.

Conclusions: The genetic determination of the initial vegetative tone of a person has been revealed, which makes it possible to use it to develop an individual program of physical activity.

Keywords: aged, genetic determinism, vegetative state, physical activity

Обоснование

На протяжении нескольких десятилетий в мире наблюдается рост численности и доли пожилых людей, в то время как число детей и молодежи начали снижаться. В 2023 году Департамент по экономическим и социальным вопросам Секретариата Организации Объединенных Наций (ДЭСВ ООН) опубликовал Всемирный социальный доклад под названием «Не оставляя никого позади в стареющем мире». В этом докладе освещены проблемы старения, его влияние на медицину, общество и экономику, а также подчеркивается важность признания и принятия во внимание фактора старения в глобальном масштабе. Ожидается, что к 2050 году число людей в возрасте 65 лет и старше удвоится, и превысит 1,6 миллиарда человек [1]. Поэтому в последние годы количество и важность научных публикаций, посвященных теме старения, значительно возросло [2].

Перед всеми странами стоят трудные задачи по подготовке систем здравоохранения и социального обеспечения к максимально эффективной работе в условиях данного демографического сдвига [3].

Генеральная Ассамблея Организации Объединенных Наций (ООН) провозгласила период 2021–2030 гг. Десятилетием здорового старения и поручила ВОЗ руководить его проведением. Это знаменует глобальное сотрудничество, в рамках которого правительства, СМИ, гражданское общество, международные учреждения, специалисты в различных областях и научные сообщества должны совместно предпринять согласованные усилия по содействию более продолжительной и здоровой жизни людей [3].

Поиском решений данных задач занимается стратегический проект ННГУ «Здоровое поколение», в рамках которого мы изучаем проблематику долголетия с точки зрения психологических, психофизиологических и социальных аспектов с целью создания комплекса мер, направленных на привлечение максимального количества людей к регулярным занятиям физической активностью, которая является основой повышения качества жизни пожилых людей [4].

Для формирования мотивации к регулярным занятиям физической культурой необходима персонификация тренировочного процесса. Это становится возможным при учёте глобальных системообразующих параметров деятельности организма, ведь выносливость и скоростно-силовые характеристики являются производной множественных генетических детерминант, таких как регуляция клеточного метаболизма, ферментный профиль индивида, полиморфизмы генов выносливости [5, 6].

В настоящее время показана генетическая детерминированность физической работоспособности пожилых людей по функциональным показателям [6, 7], однако роль полиморфизмов генов, кодирующих возраст-зависимые метаболические каскады, раскрыта недостаточно полно.

Цель исследования

Оценить сопряженность полиморфизмов ряда метаболических генов с гемодинамическими показателями нагрузочного тестирования и вегетативного гомеостаза у пожилых людей для создания персонифицированной стратегии по сохранению качества жизни и обеспечению активного долголетия.

Методы

Дизайн исследования

В ходе реализации данного неконтролируемого, открытого, обсервационного, проспективного исследования в популяции реальной практики был проведен анализ психо-

функционально-метаболического статуса 184 человек в возрасте 60–75 лет, средний возраст исследуемых – 67 лет. Из них 24 человека (13,04%) – мужчины, 160 (86,96%) – женщины. Исследование проводилось на базах лаборатории интегрального здоровья человека факультета физической культуры и спорта Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского, а также лаборатории медико-восстановительного центра врачебно-физкультурного диспансера Нижегородской области.

Для определения генетической детерминированности физической работоспособности пожилых людей по функциональным показателям, нами был оценен их исходный вегетативный тонус, физические возможности и проанализированы образцы генетического материала.

Оценка исходного вегетативного тонуса проводилась с помощью аппаратно-программного комплекса «Индивидуальные пути движения к здоровью» (ООО «Нейрософт», Россия), включавшего в себя опросник Вейна. Процедуру оценки проводил подготовленный исследователь. Обработка анкет выполнялась в автоматическом режиме. При интерпретации учитывали общую сумму баллов парасимпатических (ПП) и общую сумму симпатических (СП) признаков, на основании которых вычисляли индекс парасимпатической регуляции (ИПР, %), как ИПР=ПП/(ПП+СП)*100%, использовавшийся далее в качестве количественной переменной. При качественной оценке считали, что ПП≥51 соответствует преобладанию парасимпатической регуляции (ваготонии), а СП≥51 – симпатической регуляции (симпатикотонии).

Физические возможности оценивались с помощью теста 6-минутной ходьбы. Пробу выполняли под наблюдением обученного исследователя по стандартной методике в закрытом помещении. Регистрировали дистанцию, пройденную испытуемым за 6 минут, а также частоту пульса, систолическое и диастолическое артериальное давление до и после теста. В соответствие с рекомендациями Bohannon, R.W. (2007), за нормальную физическую способность принимали возможность испытуемого пройти дистанцию 448 м и более.

Также у всех испытуемых получали образцы крови для изучения полиморфизмов 4 генов:

- *гена синаптотагмина* (SYT 10, rs6488162), который кодирует семейство мембранных белков, расположенных в мембранах синапсов. Предполагается участие данного гена в процессах связывания фосфолипидов и синтаксина, димеризации белка, экзоцитозе и нейропротекции. В литературе присутствуют сведения о его разнонаправленном действии на продолжительность кардиоцикла при выполнении физической нагрузки [8];

- *гена трансаминазы 1 аминокислот с разветленной цепью* (BCAT 1, rs4963772), имеющего цитозильную и митохондриальную форму. Цитозольная форма фермента катализирует трансаминирование альфа-кетокислот с разветвлённой цепью в L-аминокислоты с разветвлённой цепью, необходимых для роста клеток, вследствие чего данная изоформа преимущественно обнаруживается в центральной нервной системе. Митохондриальная

изоформа BCAT 1 убиквитарна и сопряжена с энергетическим метаболизмом клеток [9]. Предполагается, что экспрессия рассматриваемого гена связана с параметрами, характеризующими насосную функцию сердца, в частности, частотой сердечных сокращений, а также восстановительными процессами [10], которые определяются тонусом парасимпатического отдела вегетативной нервной системы;

- *гена, кодирующего белок, взаимодействующий с альфа-синуклеином* (SNCAIP, rs4836027). Продукт данного гена может играть существенную роль в нейродегенеративных процессах, в том числе – при болезни Альцгеймера, а сопряженный с ним альфа-синуклеин участвует в клеточной дифференцировке, синаптической пластичности, выживании клеток, дофаминэргической нейротрансмиссии. Предполагается, что полиморфизмы указанного гена оказывают влияние на симпатическую стимуляцию миокарда и, следовательно, на частоту сердечных сокращений и ее динамику при физических упражнениях [10];

- *гена субъединицы A11 убихиноноксидоредуктазы* (NDUFA11, rs12974440), кодирующего субъединицу мембраносвязанного митохондриального комплекса I. Он оказывает влияние на энергетический метаболизм, а дефицит комплекса I является наиболее распространенным дефектом дыхательной цепи [11], клинически проявляющимся тяжелым неонатальным лактоацидозом, различными комбинациями неврологических, сердечных, печеночных и почечных нарушений (энцефалопатии, кардиомиопатии, некоторые формы болезни Паркинсона) [12]. В литературе присутствуют данные о потенциальной связи полиморфизмов данного гена с вариабельностью сердечного ритма [13].

Изучение полиморфизмов генов производили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Полученные результаты были занесены в электронную таблицу и проанализированы с помощью программного пакета Statistica 12 (StatSoftInk, США).

Критерии соответствия

Критериями исключения были: тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации или обострения, а также острые заболевания, препятствовавшие прохождению процедур исследования в соответствие с протоколом или являвшиеся противопоказаниями к одному из основных методов исследования; психические расстройства, препятствующие эффективной коммуникации и выполнению процедур исследования.

Условия проведения

Материально-технической базой исследования являлась лаборатория интегрального здоровья человека, факультета физической культуры и спорта Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского (г. Нижний Новгород), а также лаборатория медико-восстановительного центра врачебно-физкультурного диспансера Нижегородской области.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки: расчёт размера выборки проводился по формуле $n = (Z * \sigma / e)^2$, в результате чего долженствующий объём выборки составил 385 человек, который будет достигнут на последующих этапах данного проспективного исследования.

Методы статистического анализа данных:

Полученные результаты заносили в электронную таблицу и анализировали с помощью программного пакета Statistica 12 (StatSoftInk, США). После проверки нормальности распределения применяли тест Стьюдента для связанных выборок с целью оценки динамики количественных показателей, линейную корреляцию Пирсона и многомерное моделирование в форме многофакторного регрессионного анализа для оценки факторов, потенциально влияющих на динамику ПФМ-потенциала. Количественные показатели представлены в форме среднего значения и границ 95% доверительного интервала, категориальные – в виде процентной доли. За критический уровень значимости во всех видах анализа принимали p=0,05.

Результаты

Анализ распределения обследуемых пожилых людей в зависисмости от типа исходного вегетативного тонуса выявил в половине случаев парасимпатикотонию, у каждого пятого определялась симпатикотония, а в 30% случаев – эйтония (рис. 1).

Среднее значение пройденной дистанции по тесту 6-минутной ходьбы составило 422,4 [409,1-435,8] м 95% ДИ. Из тех, кто выполнил тест, лишь 30,6 % прошли дистанцию, считающуюся нормальной для данной возрастной группы. Таким образом, физические возможности 2/3 испытуемых можно признать сниженными.

При выполнении нагрузочного тестирования – тест шестиминутной ходьбы были выявлены разные реакции на физическую нагрузку и восстановление после нагрузки. С учетом характера ответа на тестовую физическую нагрузку была сформирована гипотеза о возможном сопряжении типа реакции на физическую нагрузку, косвенно свидетельствующей о типе ИВТ, и полиморфизма генов метаболической направленности.

В частности, по гену синаптотагмина у ваготоников отчетливо превалирует генотип CT, а минорными вариантами являются CC и TT. При преобладании симпатической стимуляции миокарда фиксировали более равномерно распределенную структуру полиморфизмов с умеренным превалированием варианта CT (около 50% пожилых людей с симпатотоническим характером ответа на физическую нагрузку) (рис.2). Наименее выраженная зависимость относительно типа вегетативной регуляции кардиоритма выявлена для гена трансаминазы 1 аминокислот с разветленной цепью (рис. 3).

Нами установлено лишь небольшое повышение распространенности генотипа GG у людей с симпатикотонией. Интересные данные были получены для гена белка,

взаимодействующего с альфа-синуклеином (рис. 4). Так, у пожилых людей с ваготонией выделены два однозначно превалирующие варианта генотипа – CT и TT с приблизительно равной распространенностью. Напротив, у лиц с симпатикотонией большинство генотипов демонстрировали более равномерную структуру. В этом случае фиксировали умеренное преобладание генотипа TT, однако высокая частота обнаружена для полиморфизмов CT и TC. У представителей обеих выделенных групп минорным вариантом явился генотип CC.

Оценка распространности полиморфизмов гена субъединицы A11 убихинооксидоредуктазы (NDUFA11) позволила установить, что у пожилых людей с симпатикотонией более часто встречается вариант GG, чем у ваготоников.

На последнем этапе исследования нами изучено потенциальное сопряжение выявленных генетических полиморфизмов с функциональными гемодинамическими показателями пожилых лиц, как в исходном состоянии, так и после выполнения функциональной пробы в форме методики шестиминутной ходьбы (табл. 1). Установлено, что имеет место генетическая детерминация рассматриваемых параметров системной гемодинамики до и после тестирования. Выявлено, что в спокойном состоянии частота сердечных сокращений и уровень диастолического давления у обследованных людей сопряжены с полиморфизмами всех оцениваемых генов, причем наиболее выраженной эта тенденция была для гена синаптотагмина и гена трансаминазы 1 аминокислот с разветвленной цепью. Роль этих полиморфизмов сохранялась и после завершения физической нагрузки.

Менее существенную роль в обеспечении гемодинамического ответа на функциональную пробу играли полиморфизмы генов белка, связанного с альфа-синуклеином и гена субъединицы A11 убихинооксидоредуктазы, причем последний не обнаруживал никаких статистически значимых корреляций с параметрами системной гемодинамики у пожилых испытуемых после проведения нагрузочного тестирования.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Проведенное исследование доказало сопряженность полиморфизмов ряда метаболических генов с гемодинамическими показателями нагрузочного тестирования и вегетативного гомеостаза у пожилых людей, что позволяет использовать их для создания индивидуальной стратегии по сохранению качества жизни и обеспечению активного долголетия.

Обсуждение основного результата исследования

До сих пор недостаточно изучены гены, прямо или косвенно определяющие вегетативный гомеостаз и физическую работоспособность человека. Написано множество работ о генетической детерменированности регуляции клеточного метаболизма, ферментного профиля индивида, полиморфизмах генов выносливости [5, 6]. Однако, это не даёт понимания

целостной картины индивидуальной предрасположенности человека к тем, или иным видам физической активности. Его может обеспечить учёт индивидуальных особенностей глобальных системообразующих параметров жизнедеятельности организма, одним из которых является исходный вегетативный тонус. Доказательство генетической детерменированности ИВТ определяет его неизменность на протяжении всей жизни и позволяет использовать его при выстраивании индивидуального тренировочного процесса. Ваготоники и симпатикотоники обладают своими психофизиологическими особенностями, что приводит к наличию у них уникальных сильных и слабых сторон [14]. Эти различия важно учитывать при разработке персонализированных стратегий для поддержания качества жизни и продления активного долголетия.

Ограничения исследования

В статье представлены промежуточные результаты анализа продолжающегося проспективного исследования, поэтому полученные данные могут быть недостаточными из-за относительно небольшого размера выборки. Также в исследовании текущая выборка была несбалансированной по полу и состояла в основном из женщин.

Заключение

Выявлена генетическая детерминированность исходного вегетативного тонуса человека, что позволяет использовать его для разработки индивидуальной программы двигательной активности.

Источник финансирования

Исследование финансировалось за счет исследовательского гранта Н-458-99 «Определение информативных параметров психо-функционально-метаболического потенциала лиц пожилого возраста как основы системы телемедицинского мониторинга и консультирования населения, предназначенной для персонифицированного сохранения качества жизни и обеспечения активного долголетия», проводимого в рамках стратпроекта «Здоровое поколение», программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

Участие авторов

Алексинский Д.С. Сбор и анализ данных, написание текста статьи, обеспечение материалов для исследования.

Сараева В.С. Сбор и анализ данных, написание текста статьи, обеспечение материалов для исследования.

Нежкина Н.Н. Формулирование идеи и концепции исследования, руководство проектом, проверка и редактирование рукописи.

Соколовская С.В. Проверка и редактирование рукописи, разработка графиков, таблиц и

других графических материалов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. United Nations Department of Economic and Social Affairs. World Social Report 2023: Leaving No One Behind In An Ageing World. 2023; 2023: 1-162. https://doi.org/10.18356/9789210019682.

2. Mahmood M.N., Dhakal S.P. Ageing population and society: a scientometric analysis. *Qual Quant*. 2023; 57:3133–3150. doi:10.1007/s11135-022-01509-3.

3. World Health Organization (2022, October 1) Aging and health. Received from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health

4. Björk A., Ribom E., Johansson G., et al. Variations in the vitamin D receptor gene are not associated with measures of muscle strength, physical performance, or falls in elderly men. Data from MrOS Sweden. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019; 187:160-165. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.11.014.

5. Jeffries M.A., Donica M., Baker L.W., et al. Genome-wide DNA methylation study identifies significant epigenomic changes in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheumatol*. 2014; 66(10):2804-2815. doi: 10.1002/art.38762.

6. Jóźków P., Słowińska-Lisowska M., Łaczmański Ł., et al. Melanocortin-4 receptor gene polymorphism and the level of physical activity in men (HALS Study). *Endocrine*. 2011; 39(1):62-68. doi: 10.1007/s12020-010-9412-7.

7. Colovati M. E. S., Novais I. P., Zampol, M., et al. Interaction between physical exercise and APOE gene polymorphism on cognitive function in older people. *Braz J Med Biol Res*. 2020; 54(2):e10098. doi: 10.1590/1414-431X202010098.

8. van de Vegte Y.J., Tegegne B.S., Verweij N. et al. Genetics and the heart rate response to exercise. *Cell. Mol. Life Sci*. 2019; 76:2391–2409. doi:10.1007/s00018-019-03079-4.

9. Lynch CJ., Kimball SR., Xu Y., et al. Global deletion of BCATm increases expression of skeletal muscle genes associated with protein turnover. *Physiol Genomics*. 2015; 47(11):569-80. doi: 10.1152/physiolgenomics.00055.2015.

10. She P., Zhou Y., Zhang Z., et al. Disruption of BCAA metabolism in mice impairs exercise metabolism and endurance. *J Appl Physiol.* (1985) 2010; 108(4):941-9. doi: 10.1152/japplphysiol.01248.2009.

11. Berger I., Hershkovitz E., Shaag A., et al. Mitochondrial complex I deficiency caused by a deleterious NDUFA11 mutation. *Annals of neurology*. 2008; 63(3):405–408. doi: 10.1002/ana.21332.

12. Peverelli L., Legati A., Lamantea E., et al. New missense variants of NDUFA11 associated with late-onset myopathy. *Muscle Nerve*. 2019; 60(2):E11-E14. doi: 10.1002/mus.26511.

13. Knapp-Wilson A., Pereira G. C., Buzzard E., et al. Maintenance of complex I and its supercomplexes by NDUF-11 is essential for mitochondrial structure, function and health. *Journal of cell science*. 2021; 134(13):jcs258399. doi: 10.1242/jcs.258399.

14. Нежкина Н.Н. Системный анализ показателей развития и нейровегетативного статуса детей 7 – 17 лет с синдромом вегетативной дистонии. дифференцированные программы немедикаментозной коррекции: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. – Иваново; 2005. [Nezhkina N.N. Sistemnyj analiz pokazatelej razvitiya i nejrovegetativnogo statusa detej 7 – 17 let s sindromom vegetativnoj distonii. differencirovannye programmy nemedikamentoznoj korrekcii: dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni doktora medicinskih nauk. – Ivanovo; 2005. (In Russ).]

Таблицы

Таблица 1. Оценка сопряжения генетического полиморфизма с параметрами гемодинамики в процессе выполнения теста с шестиминутной ходьбой (по результатам корреляционного анализа)

Ген	**До теста**	**После теста**
SYT 10	Диастолическое артериальное давление (r = -0,35), частота сердечных сокращений (r =-0,37)	Диастолическое артериальное давление (r = -0,33), частота сердечных сокращений (r = -0,34)
BCAT 1	Диастолическое артериальное давление (r = -0,35), систолическое артериальное давление (r =-0,43)	Диастолическое артериальное давление (r = +0,32), систолическое артериальное давление (r = -0,31)
SNCAIP	Частота сердечных сокращений (r = -0,32)	Частота сердечных сокращений (r = -0,34)
NDUFA11	Диастолическое артериальное давление (r = +0,31)	-

Рисунки

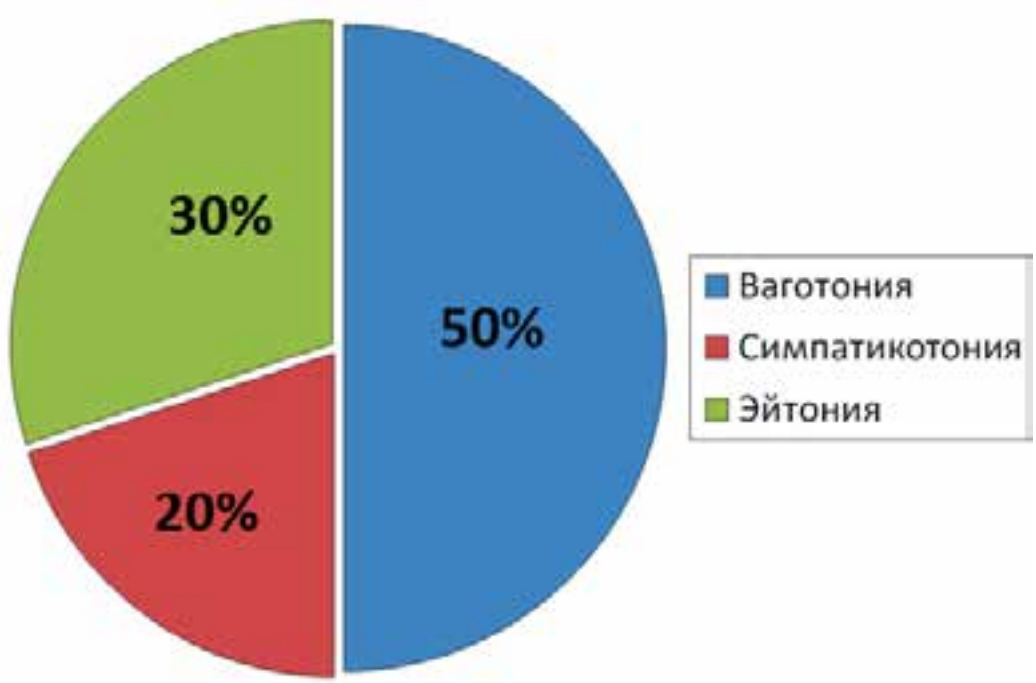


Рисунок 1. Распределение обследуемых пожилых людей в зависисмости от типа исходгого вегетативного тонуса (ИВТ)

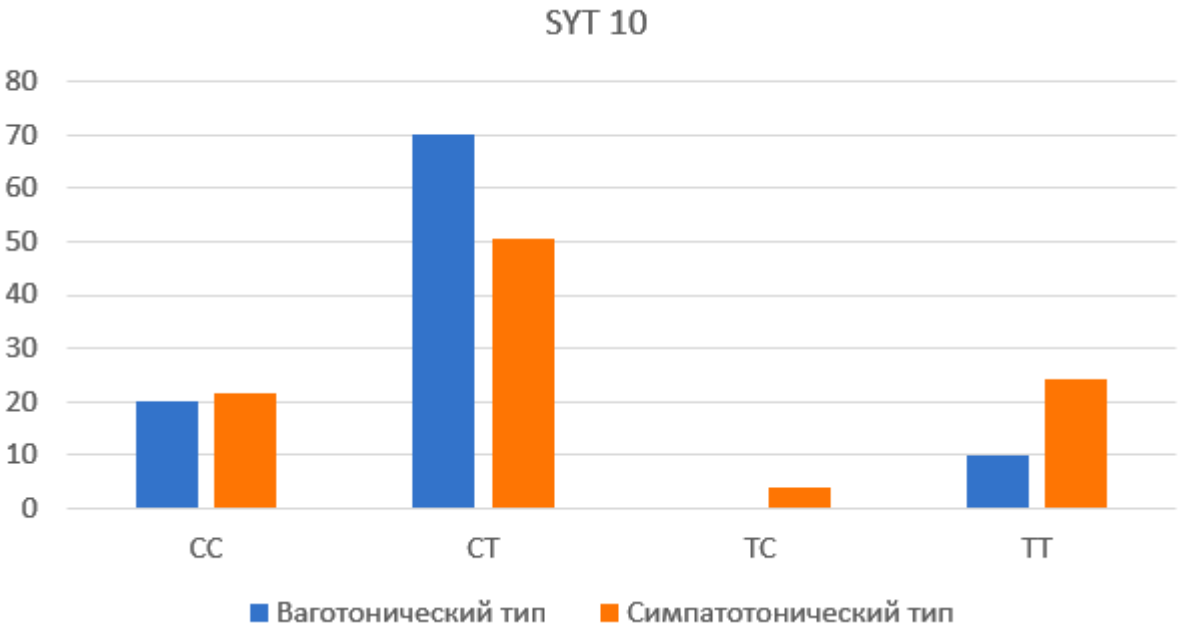


Рисунок 2. Структура полиморфизмов гена синаптотагмина (SYT 10) в зависимости от ответа на тест шестиминутной ходьбы

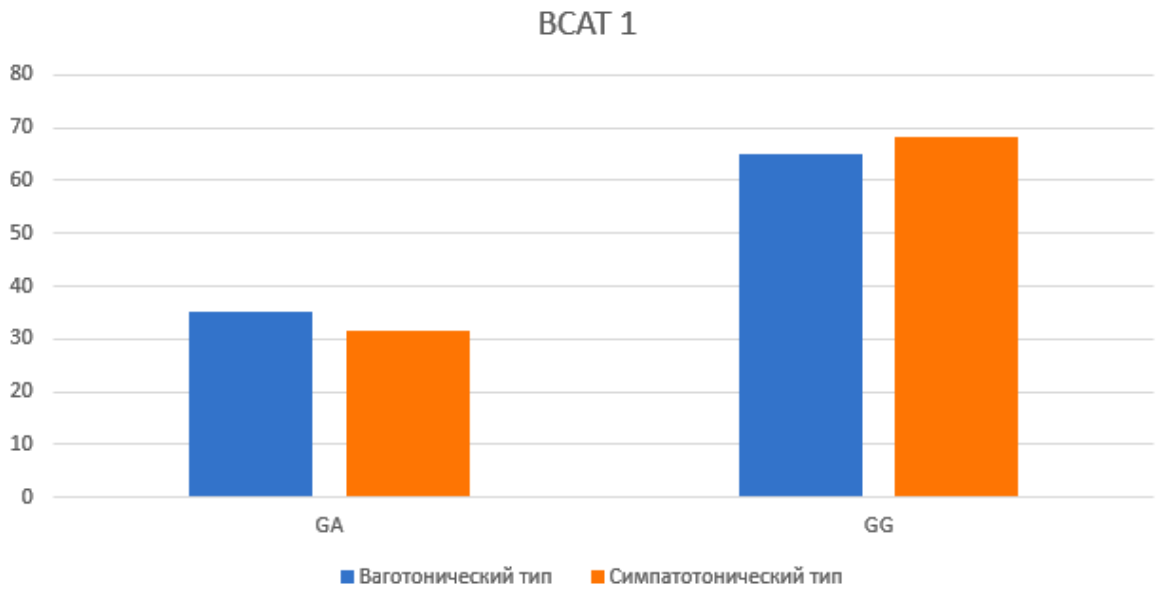


Рисунок 3. Структура полиморфизмов гена трансаминазы 1 аминокислот с разветленной цепью (BCAT 1) в зависимости от ответа на тест шестиминутной ходьбы

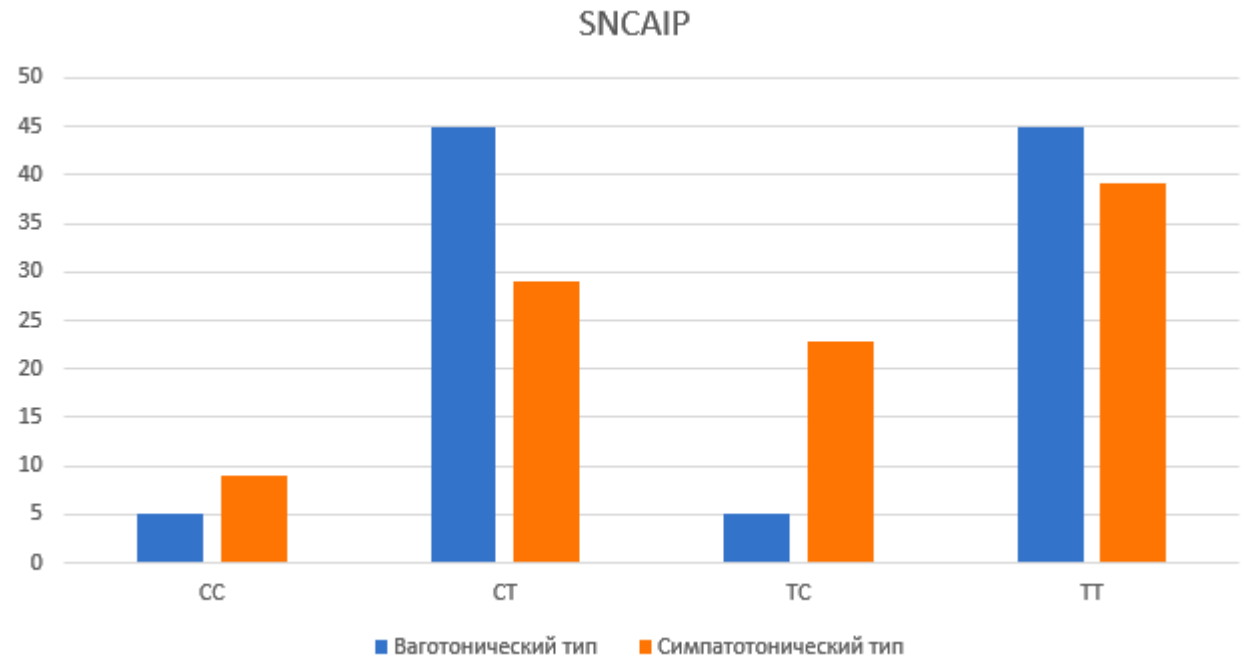


Рисунок 4. Структура полиморфизмов гена белка, взаимодействующего с альфа-синуклеином (SNCAIP) в зависимости от ответа на тест шестиминутной ходьбы

Контактная информация

Алексинский Дмитрий Сергеевич, студент 5 курса [**Dmitry S. Aleksinsky** 5th year student]; Россия, 153012, Иваново, Шереметевский просп., д. 8 [address: 8 Sheremetyevo Avenue, Ivanovo, Ivanovo region, 153012, Russian Federation]; телефон: +79158347112; **ORCID**: 0009-0004-2042-7260; **e-mail**: jester.97.97@mail.ru.

Сараева Валерия Сергеевна, студентка 5 курса [**Valeria S. Saraeva** 5th year student]; **ORCID**- идентификатор - 0009-0008-5766-7988 **e-mail**: v.saraeva@mail.ru.

Нежкина Наталья Николаевна, д.м.н., доцент, [**Natal'ya N. Nezhkina**, Dr. Sci. Med., docent]; **ORCID**: 0000-0002-3731-130X; **eLibrary SPIN**: 7617-1297; **e-mail**: natanezh@mail.ru.

Соколовская Светлана Владимировна, к.п.н., доцент, [**Svetlana V. Sokolovskaia**, PhD in psychology, docent]; **ORCID**: 0000-0002-9087-2333; **eLibrary SPIN**: 5873-2280; **e-mail:** sokolovskaia@fks.unn.ru.

БИОЭТИКА, ПРОБЛЕМЫ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА И ЦИФРОВОГО ЗДОРОВЬЯ

А.В. Антипов*, кандидат философских наук, научный сотрудник
Институт философии РАН. Российская Федерация, 109240, г. Москва, ул. Гончарная, д. 12, стр. 1
**e-mail:* nelson02@yandex.ru

Аннотация: Результаты исследования обсуждают этические и философские аспекты создания искусственных интеллектуальных систем и моральных агентов. Доклад рассматривает различные стратегии этической регуляции для использования в интеллектуальных системах и обращает внимание на негативные аспекты создания искусственных моральных агентов. Также поднимаются вопросы, связанные с этикой интеллектуальных систем, и анализируются противоречия, связанные с их реализацией. При этом проблемы искусственного интеллекта актуализируются в связи с появлением концептов цифрового здоровья и подключенного пациента. Они связаны как с генерацией данных посредством носимых устройств, так и их анализом с помощью искусственных интеллектуальных систем.

Ключевые слова: интеллектуальные системы, ответственность, дилеммы, искусственные моральные агенты, этика, биоэтика, цифровое здоровье

Искусственные моральные агенты (ИМА) являются тем, что должно позволить человеку и человечеству вступить в новую эру своего развития. Мораль в данном случае служит тем, что позволяет человеку впустить интеллектуальные системы (ИС) в сферу собственного мира, тем самым позволив искусственным моральным агентам стать частью взаимодействия между субъектами. В рамках данного доклада предполагается, что понятия «интеллектуальные системы» и «искусственные моральные агенты» могут использоваться в качестве взаимозаменяемых понятий несмотря на то, что понятие «интеллектуальные системы» по своему объему шире, чем «искусственные моральные агенты». Основанием, которое позволяет это сделать, служит стремление приблизить интеллектуальные системы в своем общем понимании к искусственным моральным агентам, то есть предложить такую концепцию морали, которая, с одной стороны, была бы достаточно формализуема, чтобы стать основанием для действий машины, а с другой стороны, отвечала требованиям человека к межличностному и субъект-субъектному взаимодействию. Первое положение важно, поскольку споры по поводу того, какая этическая теория в достаточном степени способна стать основанием для действий интеллектуальных систем, довольно ожесточенно ведутся в рамках как инженерного, так и гуманитарного исследования. Второе положение находит свой отклик во все более распространенном использовании интеллектуальных систем в повседневности.

Интеллектуальные системы все сильнее проникают в обыденное существования человека. Существует точка зрения, что «мораль всегда считалась прерогативой только человека, однако современное развитие технологий показывает, что для дальнейшего развития нам необходимо объяснить моральные принципы для их использования машинами» [1]. Встает закономерный вопрос, почему для машин необходимо использование именно морали, и не достаточно ли здесь только правовых норм.

Правовые нормы способны регулировать взаимодействия только с точки зрения формальных обязательств, которые наступают в результате осознанного вступления в

контракторные обязательства, если говорить о межличностном взаимодействии. В то же время мораль позволяет определять и регулировать отношения, возникающие в рамках каждодневного существования, в которое все более проникают интеллектуальные системы. Мораль является непосредственной формой человеческого, которая необходима для взаимодействия человека и интеллектуальных систем в равном поле возможностей. Так, мораль позволяет регулировать более широкий пласт взаимодействий, представляя собой как форму обоснования человеческого, так и дополнительный способ регулирования и регламентирования поведения.

Интеллект распространен среди множества животных и искусственных агентов. Он позволяет существу взаимодействовать с естественной причинно-следственной последовательностью и изменять ее. Что можно назвать искусственным интеллектом? Предлагается множество определений искусственного интеллекта, среди которых остановимся на одном из вариантов в качестве рабочего определения. Искусственный интеллект (ИИ) — научная дисциплина, использующая возможность компьютерной обработки символов для поиска общих методов автоматизации перцептивной, когнитивной и манипулятивной деятельности с помощью алгоритмов [1]. В искусственных моральных агентах, как предполагается, искусственный интеллект находит свою реализацию. Укажем некоторые области применения искусственного интеллекта: решение задач, представление и обработка знаний, планирование действий, обучение, коммуникация, восприятие и действие, агентность.

В рамках философских и когнитивных оснований выделяется общий способ создания искусственного интеллекта, который состоит в разработке новых путей и взглядов на этику, а также альтернативных подходов к этике. В данном случае выделяется и то, благодаря чему ИИ может быть полезен: он способен предохранять нас же от наших слабостей (предполагается, что люди передают друг другу свой опыт в процессе социализации, но часто натыкаются на одни и те же ошибки, которые приводят к неблагоприятным последствиям, с которыми ИИ поможет справиться); последовательность и беспристрастность в принятии решений, что позволяет использовать искусственные системы в качестве адвоката дьявола (т.е. для проверки обоснованности, например, научных положений).

Искусственный моральный агент – это виртуальный агент (программное обеспечение) или физический агент (робот), способный вести себя морально или, в крайнем случае, избегать аморального поведения. Это моральное поведение может быть основано на таких этических теориях, как утилитаризм, этика добродетелей, деонтология [2].

Общая цель состоит в создании искусственных агентов, способных выполнять те же задачи, что и люди, а также наделить их возможностью этичного поведения, чтобы инкорпорировать их в состав человечества. Для реализации этой цели необходимо, чтобы искусственные агенты обладали автономией. В условиях невозможности достижения состояния полной автономии, которой, в терминологии Дж. Мура, который выделяет четыре типа искусственных моральных агентов (явные, неявные, агенты этического воздействия и полные моральные агенты) [3], обладают только полные этические агенты, вводится понятие регулируемой автономии (более подробно речь о ней пойдет ниже), при которой людям предоставляется возможность вмешиваться в работу искусственных агентов, если они не способны решить вставшие перед ними проблемы и задачи. Это позволяет избежать вредного поведения искусственных агентов и сделать их работу потенциально контролируемой [2]. Такая модель способна показать положительный результат в дилеммматических ситуациях. В процессе совершения морального выбора субъект неизбежно сталкивается с дилеммами, которые делятся на два вида [4]: дилеммы обязательств, при которых все возможные действия являются

обязательными, но с необходимостью нужно выбрать только какое-то одно из них; и дилеммы запрета, при которых все возможные действия запрещены, но одно из действий должно быть исполнено. Вовлечение человека в процесс поиска решения для дилемм помогает решить проблему ответственности: конечная ответственность за принимаемый вариант ложится на человека, который совершает выбор.

Кристани и Бурато выделяют следующие типы агентов, участвующих в решении дилемм: одиночные агенты (например, агент, использующийся в дилемме вагонетки); объединенный (кооперативный) агент), например, экосистема услуг, которая при запросе вычислительных мощностей и спектра срабатывания должна осуществлять ранжирование (выбор между) задач, которые должны быть выполнены; агент с социальными обязательствами, например, робот, заботящийся о пожилом человеке робот, но возможна ситуация, когда его опекаемого хотят ограбить, а робот, с одной стороны, не может причинять вред другому человеку, а с другой — ему необходимо защищать опекаемого; электронный партнер, например, медицинское устройство, которое используется для удаленной записи информации жизненно важных показателей и связи с врачом и близкими пациентам в случае опасности, если устройство фиксирует ненормальные показатели, но человек чувствует себя хорошо, он может не захотеть, чтобы устройство что-то передавало врачу и близким пациента. Подлинно моральные решения сложны и требуют этической рефлексии.

Проблемы цифрового здоровья

Процесс изменений в здравоохранении характеризуется появлением новых явлений, связанных с биокапитализмом, который коммерциализирует информацию о состоянии организма. Это приводит к тому, что людям приходится самостоятельно заботиться о своем здоровье и управлять своими биологическими процессами. Технический прогресс в области здравоохранения концентрируется на производстве информации и расширяющихся возможностях для принятия решений на основе этой информации. Люди становятся ответственными за свое здоровье, инициируя действия на основе полученных данных. Однако, распространение информации о своем здоровье может повлечь за собой риски, так как информацией могут воспользоваться недобросовестные компании. Таким образом, изменения в представлениях о здоровье связаны с акцентом на информации и извлечении прибыли из нее, что меняет практики заботы о себе, даже здорового человека переводя в разряд пациентов.

Здоровье может пониматься как благополучие и улучшение, и его следует максимизировать. Биологически здоровый человек должен стремиться к большему здоровью, что может привести к дилемме перфекционизма. Продуктивность, рост результатов и интенсификация труда предполагают улучшение самого человека для достижения более высоких результатов. Такое улучшение может быть продиктовано требованиями, которые предъявляются к человеку на протяжении его жизни. Информация о состоянии организма играет ключевую роль в улучшении здоровья, поскольку позволяет инициировать действия по отношению к своему здоровью. Биомедикализация — это сдвиг от медикализации к следующему этапу, который коммерциализирует заботу о здоровье и основывает свое воздействие на представлении о будущем. Превентивное вмешательство и профилактическая медицина формируют условия, при которых развитие патологии может быть замечено в самом начале, что делает возможность благоприятного исхода более вероятной. Однако, критики медикализации отмечают, что медикализация (и биомедикализация) являются лишением средств для понимания и передачи социального опыта в понимании своей жизни и окружающей среды.

Сегодня концепции "вовлечения пациента" включают ссылки на самоконтроль и уход за собой, практики, которые часто осуществляются с помощью оцифрованных устройств. Идеальный "квантифицированный пациент" использует возможности, предоставляемые цифровыми устройствами самоотслеживания, чтобы управлять своим заболеванием или предотвратить болезнь. Эрик Тополь утверждает, что с помощью цифровых технологий пациенты могут и должны стать экспертами самих себя, что радикально изменит отношения между врачом и пациентом. Многие авторы в области профилактической медицины и пропаганды здорового образа жизни также начали ссылаться на важность самостоятельного отслеживания телесных действий как способа предотвращения заболеваний [5].

***

Процесс применения искусственных систем и в том числе искусственных моральных агентов в рамках медицина сопряжен со многими рисками, которые характерны для искусственных систем в общем. Появление концепций цифрового здоровья и вовлеченного, квантифицированного пациента приводят, с одной стороны, к тому, что человек становится более качественным экспертом самого себя, а с другой — увеличивают риски и без того потенциально проблемных аспектов технологического развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pereira L. M. et al. Artificial Intelligence, Machine Autonomy and Emerging Needs //Machine Ethics: From Machine Morals to the Machinery of Morality. 2020. P. 19-24.
2. Cervantes J., López S., et al. Artificial Moral Agents: A Survey of the Current Status // Science and Engineering Ethics. 2020. Pp. 501–532.
3. Moor J. The nature, importance, and difficulty of machine ethics // IEEE Intell Syst. 21(4). 2009. P. 18–21
4. Cristani M., Burato E. Approximate solutions of moral dilemmas in multiple agent system // Knowledge and Information Systems. 18(2). 2009. Pp. 157–181.
5. Lupton D. The quantified self: a sociology of self-tracking. Malden, MA: Polity, 2016.

АНАЛИЗ ПРОБЛЕМ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ТЕЛЕМЕДИЦИНСКИХ УСЛУГ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Е.Е. Ачкасов, М.М. Куранов, Д.А. Волкова, Т.Ю. Шелехова

Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России), кафедра спортивной медицины и медицинской реабилитации

На данный момент телемедицина - это не просто технологическое удобство, а катализатор изменения динамики здравоохранения. Ее влияние на доступность, оптимизацию ресурсов, расширение прав и возможностей пациентов и интеграцию с передовыми технологиями ставит ее во главу эволюции здравоохранения. В этой постоянно развивающейся сфере телемедицина выступает в качестве преобразующей силы, разрушающей барьеры и способствующей наступлению эры ориентированности на пациента. По мере изучения ее всестороннего влияния на здравоохранение, становится ясно, что телемедицина кардинально меняет природу взаимодействия пациента и врача. Телемедицинские услуги выступают в роли важнейшего «связующего звена» между лечащим врачом и пациентом, давая возможность отменить необходимость ранее обязательной привязанности здравоохранения к географическому положению. По сути своей, она действует как мост, преодолевающий пространственные ограничения и обеспечивающий своевременный доступ к медицинской помощи даже для пациентов, находящихся в самых отдаленных и опасных условиях. В лечении хронических заболеваний телемедицина также занимает проактивную позицию. Предоставляя пациентам возможность активно участвовать в процессе лечения, она представляет новый подход к лечению хронических заболеваний. Акцент смещается с эпизодического ухода на непрерывный и совместный подход, который не доставляет пациенту неудобств и позволяет проводить консультации, не выходя из дома. Такой подход позволяет более эффективно контролировать динамику заболевания, проводить мероприятия по его лечению и профилактике возможных осложнений. Телемедицинские услуги в перспективе также могут стать «связующим звеном» для глобального сотрудничества между медицинскими работниками по всему миру.

Однако, при изучении сферы телемедицинских услуг в России возникает одна существенная и довольно критичная проблема: ощутимые пробелы и двусмысленности в существующей законодательно-правовой базе. Эти недостатки законодательства создают вокруг телемедицинских услуг атмосферу неопределенности, что вызывает опасения у потенциальных пользователей этих услуг и напрямую влияет на быструю и беспрепятственную интеграцию телемедицинских практик в наших медицинских учреждениях [1]. Современный нормативно-

правовой ландшафт имеет значительные пробелы, которые делают телемедицинскую практику уязвимой для этических и законодательных неясностей [2]. Неоднозначные формулировки в законодательстве влекут за собой неопределенность в отношении законодательно допустимого объема услуг, которые будут оказаны на телемедицинском приеме, а также лицензионных требований и стандартов защиты персональных данных пациента. Отсутствие ясности не только препятствует расширению и развитию телемедицины в России, но и открывает возможности для потенциального образования этических и рабочих проблем среди медицинских работников. Ярким примером недостатка существующего законодательства является неоднозначное определение стандартов защиты персональных данных [3]. Отсутствие конкретных рекомендаций по защите медицинской информации, передаваемой через телемедицинские платформы, а также отсутствие четких требований к интернет-провайдерам вызывает сомнения как у медицинских работников, так и у граждан в отношении целостности конфиденциальных медицинских данных. Следствием этих пробелов в законодательстве является глубокий страх российских граждан перед телемедициной [4]. Этот страх, подкрепленный правовой неопределенностью, выливается в нежелание пользоваться телемедицинскими услугами, что лишает граждан всех преимуществ и удобств, которые предоставляют телемедицинские услуги.

Цель исследования

Изучение отношения и опасения граждан в отношении телемедицинских услуг, с акцентом на понимание правовых факторов, которые могли привести к полученным результатам.

Задачи исследования

- Найти и проанализировать научные статьи и социальные опросы, касающиеся недостатков правового регулирования телемедицинских услуг в России и отношения граждан к телемедицине.

- Составить и распространить онлайн-опрос среди граждан России.

- Проанализировать результаты опроса, сопоставить полученные результаты с различными недостатками законодательства.

Материалы и методы исследования

- Обзор литературы: выявляет пробелы и обосновывает вопросы исследования путем обобщения существующих знаний.

- Онлайн-опрос пациентов со стратифицированной выборкой: количественно оценивает страхи, опасения и личное отношение граждан к телемедицине, предоставляя статистические данные, а

также обеспечивает репрезентативность выборки, учитывая разнообразие для целостного понимания взглядов граждан.

- Онлайн-опрос врачей и ординоторов с применением шкалы Лайкерта. Он помог количественно оценить осведомленность медицинских работников о телемедицинских услугах, их личное отношение к ним, частоту пользования данным видом услуг.

- Глубинные интервью с определенной группой участников: качественно исследует индивидуальный опыт, углубляясь в чувства и нюансы.

- Анализ полученных данных: обобщает результаты опроса, позволяет подвести итоги.

Краткое описание работы

Среди 200 жителей Российской Федерации был распространен созданный нами онлайн-опрос. Участники ранее были не знакомы между собой, проживали в разных регионах страны, имели различный возраст и работали по разным профессиям. Опрос состоял из 6 вопросов, направленных на определение индивидуального отношения граждан к телемедицинским услугам, существования понимания граждан всех возможностей и преимуществ телемедицины для здравоохранения, понимание динамики существующих ограничений, затрудняющих активное использование данных услуг.

Среди 100 врачей был также проведен онлайн-опрос. Участники не были знакомы между собой, имели разную врачебную специальность, работали или обучались в разных университетах или больницах. Он состоял из 8 вопросов, направленных на оценку понимания перспектив пользования телемедицинскими услугами среди медицинских работников и осведомленности о данном виде оказания услуг.

Результаты

I. Опрос среди пациентов

1. Слышали ли вы когда-нибудь о телемедицинских услугах? (n=200)

Да - 57% Нет - 43%.

Осведомленность о телемедицине: Достаточно значительный процент респондентов слышали о телемедицинских услугах, что свидетельствует о нормальном уровне осведомленности. Однако такой же значительный процент людей, неосведомленных о телемедицине, свидетельствует о необходимости проведения более массовых и широких просветительских кампаний для ознакомления граждан с данным видом оказания медицинской помощи.

2. Пользовались ли вы когда-нибудь телемедицинскими услугами? (n = 200)

Да - 10,5% Нет - 89,5%.

Использование телемедицины: Лишь каждый 10 из всех опрошенных когда-либо пользовался услугами телемедицины, что свидетельствует о колоссальном разрыве между осведомленностью и фактическим использованием.

3. Волнуетесь ли вы за безопасность своих персональных/конфиденциальных данных в интернете? (n=200)

Да - 81,5% Нет - 18,5%.

Вопросы безопасности данных: Подавляющее большинство опрошенных - 81,5% - выразили обеспокоенность безопасностью своих данных в Интернете, что вызывает серьезные вопросы. Это согласуется с существующим предположением о необходимости надежных мер кибербезопасности в телемедицине. Устранение опасений имеет решающее значение не только для обеспечения неприкосновенности частной жизни, но и для укрепления доверия к телемедицинским платформам.

4. Стали бы вы пользоваться телемедицинскими услугами в настоящее время (при необходимости)? (n=200)

Да - 45,5% Нет - 54,5%.

Готовность использовать телемедицину: Почти равное разделение мнений среди респондентов подчеркивает хрупкий баланс в существующих общественных настроениях. Однако существующие на данный момент исследования показывают, что юридическая неопределенность в сочетании с опасениями по поводу безопасности данных может повлиять на решение людей при выборе телемедицинских услуг. Для устранения этой проблемы необходим многогранный подход, включающий как правовые реформы и кампании по повышению осведомленности населения, так и гарантии защиты персональных данных.

5. Как вы считаете, способна ли телемедицина решить проблемы в области здравоохранения (доступность медицинских услуг в труднодоступных регионах, перегруженность больниц и так далее)? (n=200)

Да - 70% Нет - 30%.

Вера в потенциал телемедицины: Несмотря на оговорки, значительный процент опрошенных считает, что телемедицина способна решить многие проблемы здравоохранения. Это

свидетельствует о признании ее потенциальных преимуществ и предполагает, что решение существующих проблем может привести к ее более широкому принятию и использованию.

6. Как вы считаете, способен ли врач верно поставить диагноз и назначить лечение при дистанционном приеме? (n=200)

Да - 31,5% Нет - 58,5%.

Доверие к дистанционной диагностике: Скептическое отношение к способностям врача при дистанционном приеме подчеркивает необходимость проведения множества целенаправленных мер, как юридического, так и общественного характера. В научной литературе подчеркивается важность телемедицинского обучения медицинских работников для повышения их навыков дистанционных приемов. Более широкая интеграция телемедицины в обществе, повышение ее популярности среди граждан также может уменьшить их опасения, на практике показывая и давая гарант того, что специалисты умеют оказывать качественную помощь дистанционно, тем самым укрепляя доверие и признание населения.

II. Опрос среди врачей

1. Применяли ли вы когда-нибудь телемедицинские технологии в работе с пациентами? (n=100)

Да – 50% Нет – 42% В рамках моей специализации это невозможно – 8%

Использование технологий телемедицины: Значительная доля респондентов (42%), никогда не применяла телемедицину в ходе своей работы, несмотря на имеющуюся возможность. Это указывает на ощутимый разрыв между потенциалом использования телемедицины и ее фактическим внедрением в медицинскую практику. Нежелание или неспособность медицинских работников внедрять телемедицинские технологии могут быть связаны с существующими «пробелами» в законодательной базе. Врачи могут воспринимать юридические неточности как «препятствия» для эффективной интергации телемедицины, тем самым способствуя её недостаточному использованию.

2. Хотели бы вы использовать телемедицинские технологии в ходе вашей врачебной деятельности? (n=100)

Однозначно – да 33%, Скорее да, чем нет – 42%, Скорее нет, чем да – 8%, Однозначно – нет – 17%, Затрудняюсь ответить – 0%

3. Если бы вы стали применять телемедицинские технологии, облегчило бы это вашу работу? (n=100)

Однозначно – да 33%, Скорее да, чем нет – 42%, Скорее нет, чем да – 8%, Однозначно – нет – 8%, Затрудняюсь ответить – 8%

Воспринимаемое влияние на работу и перспективы: Несмотря на относительно низкий процент внедрения, большинство респондентов признает потенциальные преимущества телемедицинских технологий, при этом 75% считает, что они облегчат им работу. Полученные результаты подчеркивают печальный парадокс: в то время как медицинские работники признают значительный потенциал телемедицины, они сталкиваются с проблемами и законодательными ограничениями в реализации этих перспектив.

4. Как вы считаете, возможно ли точно поставить диагноз на дистанционном приеме? (n=100)

Однозначно – да 8%, скорее да, чем нет – 25%, Скорее нет, чем да – 25%, Однозначно – нет – 8%, Затрудняюсь ответить – 34%

Точность диагностики в дистанционных консультациях: Мнения насчет точности диагностики удаленных консультаций были неоднозначными. Значительная часть (33%) склонна опровергать точность удаленных диагнозов, однако такой же процент респондентов склонен считать, что на телемедицинских консультациях все же можно получить достоверную информацию о состоянии пациента и в это же время 34% участников воздержались от ответа. Эта разносторонность ответов подчеркивает необходимость дальнейших модификаций для обеспечения надежности и эффективности диагностических процессов телемедицины.

5. Насколько вы довольны правовым регламентированием телемедицинских услуг в Российской Федерации? (n=100)

Однозначно доволен – 0%, Скорее доволен – 15%, Скорее недоволен – 21%, Недоволен – 21%, Затрудняюсь ответить – 14%, Не обладаю достаточными знаниями - 29%

Удовлетворенность правовым регулированием: Недовольство 42% респондентов, вероятнее всего связано с предполагаемыми пробелами и двусмысленностями в существующей правовой базе, которые препятствуют активному использованию телемедицинских технологий. Контраст между пониманием потенциала телемедицины и недовольством существующими правовыми нормами подчеркивает необходимость массивных правовых реформ для более активной и простой реализации преимуществ телемедицины в российской системе.

6. Рассказывали ли вам о телемедицинских технологиях (о правовых аспектах, о правилах пользования и т.д) на курсах додипломного образования (в институте) ? (n=100)

Да – 17% Нет – 83%

7. Рассказывали ли вам о телемедицинских технологиях (о правовых аспектах, о правилах пользования и т.д) в ординатуре? (n=100)

Да – 17% Нет – 75% Не проходил – 8%

8. Рассказывали ли вам о телемедицинских технологиях (о правовых аспектах, о правилах пользования и т.д) на курсах дополнительного образования (курсы повышения квалификации и т.д) ? (n=100)

Да – 42% Нет – 58% Не проходил – 0%

Образование и информированность: Опрос выявил значительные пробелы в образовании медицинских работников в отношении телемедицинских технологий и их правовых аспектов. Большинство респондентов сообщили, что не получили достаточной учебной и практической подготовки во время обучения в институте, ординатуре и на курсах дополнительного образования. Это подчеркивает острую необходимость в комплексных образовательных инициативах, направленных на то, чтобы вооружить медицинских работников знаниями и навыками, необходимыми для осуществления эффективной телемедицинской практики.

Выводы

Результаты опроса подтверждают все высказанные ранее опасения. Пробелы в законодательстве, в частности отсутствие четких положений о безопасности данных и требований к интернет-провайдерам, коррелируют с повышенными опасениями и ограниченной готовностью к внедрению телемедицины и ее широкому применению в нашей стране. В научном дискурсе подчеркивается важность юридической ясности и мер кибербезопасности для укрепления доверия и получения признания телемедицины среди пациентов. Анализ полученных результатов исследования и существующей литературы позволяет нам сделать вывод: правовые реформы, изменение системы образования и четкие меры кибербезопасности являются взаимосвязанными компонентами, имеющими решающее значение для успешной интеграции телемедицины в систему здравоохранения в Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Назарова, Н. А., Валуева, Н. И. Проблематика правового регулирования телемедицины в контексте цифровизации здравоохранения в России. // Вестник Санкт-Петербургского университета. Право. - 2022. - №13(2). - С. 360-377.
2. Третьякова Е. П. Правовые аспекты регулирования телемедицины //Цифровое право. – 2020. – Т. 1. – №. 2. – С. 53-66.
3. Попова А. В. Телемедицина в России и за рубежом: к вопросу о правовом регулировании //Вестник МГПУ. Серия: Юридические науки. – 2019. – №. 1. – С. 53-60.
4. Лебедев Г. С., Шепетовская Н. Л., Решетников В. А. Телемедицина и механизмы ее интеграции //Национальное здравоохранение. – 2021. – Т. 2. – №. 2. – С. 21-27.
5. Шадеркин И. А. Барьеры телемедицины и пути их преодоления //Журнал телемедицины и электронного здравоохранения. – 2022. – Т. 8. – №. 2. – С. 59-76.

РАЗРАБОТКА НАУЧНЫХ ОСНОВ И ПРИКЛАДНЫХ РЕШЕНИЙ ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ ЛОЯЛЬНОСТЬЮ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ

И.В. Богдан

Центр медико-социологических исследований ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»

В ходе исследований, проводимых под руководством автора с 2017 г. исследуются вопросы, связанные с лояльностью в здравоохранении. Управление лояльностью получателей услуг и сотрудников сегодня – доказанный способ повышения качества работы организаций, в т.ч. в здравоохранении. Методикой, выбранной для исследования лояльности, выступила популярная методика NPS, предложенная Ф. Райхельдом, в рамках которой лояльность измеряется через готовность рекомендовать место получения медицинской услуги (для пациентов) или место работы (для сотрудников, eNPS), своим друзьями и знакомым. Данная методика была выбрана среди других методик измерения лояльности по ряду причин, среди которых её простота, экономичность, обширный опыт исследования в различных странах мира, связь с высокими экономическими результатами деятельности организации и другие [1].

Несмотря на рост распространения её применения в отечественном здравоохранении и популярность, данная методика является слабо изученной с научной точки зрения, в т.ч. практически не изучены особенности её применения именно в медицинской области. Причиной этого видится во многом её маркетинговая природа, когда приоритет отдается практическому применению инструментария, а не системному изучению нюансов и причин его работы.

В ответ на такое положение дел в ходе исследований, проведенных в 2017-2023 гг. под руководством автора, была поставлена задача всестороннего научного анализа данной методики с целью повышения эффективности её практического применения в системе здравоохранения нашей стране.

На данный момент проведено более 30 исследований среди пациентов и сотрудников медицинских организаций различных форм оказания помощи и из различных служб, включая несколько репрезентативных всемосковских исследований, а также собрана база отечественных и зарубежных исследований в методологии NPS по открытым источникам. Подготовленная база данных делает вклад в решение важнейшей задачи обоснования референтных значений для показателя лояльности (какой уровень показателя - «хороший», какой – «средний» и т.д.) в разрезе различных типов медицинских организаций.

Каждое из собранных исследований в рамках базы оценено по критерию степени (коэффициента) доверия и отнесено к одной из групп – «красной», «жёлтой», «зеленой» (по мере перехода в группу более высокого уровня, степень нашего доверия результатам исследования возрастает). Коэффициент доверия является авторской разработкой и оценивается по критериям

независимости исследования и качества построения выборки. Методика расчета коэффициента размещена публично.

Указанная база данных в виде интерактивного визуального решения (Рисунок 1), в котором каждая точка-исследование окрашена в соответствующий из трех цветов, а также добавлена возможность фильтрации организаций по ряду критериев, реализована на публично доступном сайте nps.niioz.ru, созданном с помощью технических специалистов ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ». На данную разработку получено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022617246 [2]. С помощью данного решения любой руководитель медицинской организации/службы может не просто узнать средний (e)NPS для пациентов и сотрудников по нашей базе, но также понять на какой средний показатель можно ориентироваться, как средний среди организаций, похожих на его собственную. Значение среднего NPS по базе на текущий момент составляет 52,7, среднего eNPS – 17,2.

Рисунок 1. Интерактивное визуальное решение для оценки референтных знаний для лояльности в здравоохранении

На сайте nps.niioz.ru также собраны методические материалы по теме и другая справочная информация. В целом, сайт выполняет функции публичной библиотеки и базы знаний, которой может воспользоваться любой человек, заинтересовавшийся проблематикой лояльности в здравоохранении.

Говоря о методической работе, методический блок результатов можно рассматривать как другой важный итог проведенных исследований. Так, по результатам исследований были подготовленные официальные методические рекомендации, утвержденные Департаментом здравоохранения города Москвы [3], где подробно по шагам расписаны все нюансы проведения исследования лояльности: как собирать репрезентативную выборку, составлять анкету, организовать проведение исследования, а также приведены общие подходы к внедрению результатов мониторинга на различных уровнях системы здравоохранения. Данные методические рекомендации являются одной из самых подборных отечественных инструкций для проведения исследования лояльности для медицинских работников.

Ещё одним продуктом, созданным по результатам исследований, является монография по лояльности персонала [1], где помимо вышеупомянутого разбора методологии приведен подборный обзор зарубежных и ответственных теоретических и прикладных исследований, в которых раскрывается понятие лояльности персонала, её составляющие, плюсы и минусы работы с ней, предположено авторское понимание лояльности как высшей степени удовлетворенности и доверия, приведено обоснование методики NPS, как наиболее подходящей выбранному понимаю лояльности, а также раскрыты другие темы. Отдельный акцент в монографии сделан на опыте пандемии COVID-19: лояльность персонала рассматривается в монографии как один из важнейших факторов, которые позволили обеспечить антихрупкость системы здравоохранения в период её критического напряжения.

Также в рамках монографии предложен концепт для цифрового BI-решения, направленного на «реактивное» [4, с. 149] управление лояльностью на уровне медицинских организаций, служб и города. Элементы визуального дизайна данного решения приведены на Рисунке 2. В 2024 году на основании подготовленных концептов планируется создание полноценного цифрового продукта для управления лояльностью, в коллаборации с одной из крупных отечественных IT-компаний.

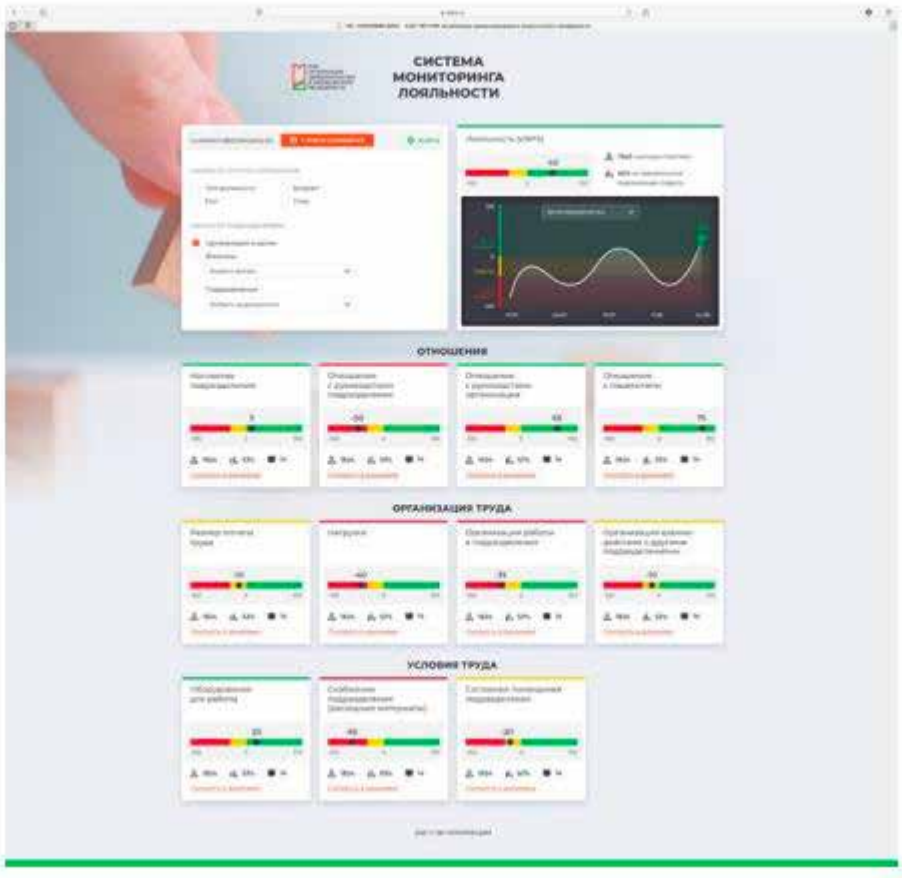


Рисунок 2. Визуальной концепт для цифрового BI-решения, направленного на управление лояльностью

Другим важным результатом исследований являлось выявление общих системных закономерностей для лояльности в здравоохранении, которые в целом инвариантны для исследованных организаций, вне зависимости от формы оказания помощи или принадлежности к определенной службе системы здравоохранения. Например, ряд таких закономерностей был выявлен для персонала системы здравоохранения:

Первой системной закономерностью является более низкая лояльность сотрудников, находящихся на более низких позициях в статусно-управленческой иерархии. Так, административно-управленческий персонал стабильно более лоялен чем рядовые врачи, а врачи более лояльны чем средний и младший медицинский персонал. Работа с лояльностью среднего медицинского персонала, по результатам наших исследований, видится не в полной мере используемым источником потенциала для развития системы здравоохранения сегодня. Например, как было показано в одном из наших исследований [4], лояльность среднего медицинского персонала демонстрирует значительно более сильную связь с показателями результативности работы отделений, чем лояльностью других групп персонала.

Вторая системная закономерность – существование универсальных факторов лояльности. Исследования показывают, что самым значимым фактором лояльности персонала, обуславливающим её высокие значения, является психологический климат в коллективе, связанный с отношениями с коллегами, руководством, хорошим восприятием коллег, эмоциональным восприятием условий работы и т.д., что находится в противоречии с часто встречаемым среди управленческого персонала нарративом о том, что основным и определяющим мотиватором для медицинских кадров являются деньги. Хотя наше исследование и показывает, что неудовлетворенность материальным стимулированием и высокой нагрузкой действительно являются значимыми факторами нелояльности в целом по персоналу, их влияние на итоговую лояльность значительно ниже, чем для психологического климата в коллективе.

Исследование в одной из многопрофильных больниц [4] позволило даже определить прямую зависимость межу лояльностью, обусловленной психологическим климатом в коллективе и рядом важных статистических показателей, среди которых стандартизированная по специализации подразделений больничная летальность. Были даже выявлены референтные значения для среднего медицинского персонала – если в отделении исследуемой больницы было более половины от численности опрошенного среднего персонала, довольных климатом в коллективе, смертность в отделении была ниже среднего по Москве среди аналогичных отделений. Если таких было четверть от численности и меньше, лояльность по подразделению опускалась до уровня менее NPS=1, за которым была больничная летальность выше среднего по Москве (Рисунок 3).

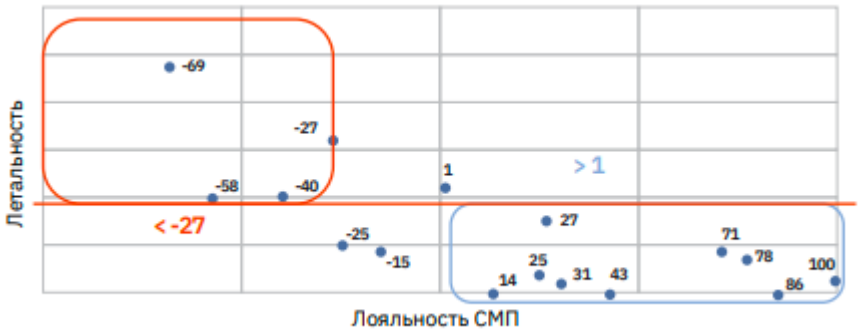


Рисунок 3. Выявленная в одном из исследований зависимость между лояльностью среднего медицинского персонала и больничной летальностью в отделении в сравнении со средним по Москве

Таким образом, важным аспектом научной новизны данного исследования в многопрофильном стационаре выступает показанная связь между субъективными показателями лояльности персонала и объективными статистическими показателями деятельности медицинских организаций. Это видится важным аргументом в пользу того, что объективные

статистические данные потенциально могут «управляться» на основании субъективных опросных данных.

Помимо указанной монографии, результаты авторских исследований приведены более чем в 10 публикациях, в т.ч. в ведущих научных журналах, а также презентованы на мероприятиях регионального, общероссийского и международного уровня. Данный цикл работ является уникальным не только для отечественной, но и для международной научной литературы, по своему объему и глубине освещения. Аналогичной монографии по использованию NPS в здравоохранении в открытых источниках найдено не было ни в нашей стране (что было подтверждено рецензентами), ни зарубежом.

Представленный проект по исследованию лояльности в здравоохранении видится важным примером синтеза знаний гуманитарной и медицинской отраслей, который вносит вклад в решение актуальных задач здравоохранения, например, в контексте улучшения качества оказываемых медицинских услуг на основании работы с обратной связью от населения и сотрудников. Это особенно важно на фоне все большего развития тенденций к человекоцентриризму при организации системы здравоохранения, включающем как заботу о пациентах, так и заботу об основном ресурсе системы здравоохранения, её кадрах.

Автор является основным исследователем, руководителем, редактором представленных работ на всех этапах исследований. При этом автору видится важным высказать благодарность бывшим сотрудникам Центра медико-социологических исследований, которые в разные годы принимали участие в данной работе: Чистяковой Д.П., Гурылиной М.В., Дреневой А.А., Праведникову А.В., Кученковой А.В., а также руководству ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», которое давало возможность для продолжения многолетних исследований по данной теме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богдан И. В., Дренева А. А., Праведников А. В., Чистякова Д. П. Лояльность персонала медицинских организаций: теория и практика // под общей редакцией И. В. Богдана. ─ М.: НИИОЗММ ДЗМ, 2021. ─ 187 с.

2. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022617246 Российская Федерация. Оценка лояльности для различных типов организаций: № 2022616741: заявл. 19.04.2022: опубл. 19.04.2022 / И. В. Богдан, Д. П. Чистякова, Д. К. Бернадо; заявитель Государственное бюджетное учреждение города Москвы «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы».

3. Богдан И.В., Праведников А.В., Чистякова Д.П. Мониторинг лояльности потребителей услуг и персонала медицинских организаций (методология (e)NPS). Методические рекомендации. ─ М., 2021. ─ 36 с.

4. Богдан И.В., Гурылина М.В. Лояльность сотрудников медицинских организаций как фактор качества медицинской помощи // Здоровье и здравоохранение в России. Сборник статей научной конференции с международным участием, Москва, 15 октября 2018 года. ─ М., 2018. ─ С. 6-11.

ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЬ В СПИНЕ. РЕАБИЛИТАЦИОННЫЙ ЦЕНТР КАК ЭТАП ПРОТИВОБОЛЕВОЙ ПОМОЩИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.В. Бодунов[1*], Г.А. Голубева[1], М.В. Кизеев[2], Н.Н. Нежкина[3]

[1*]Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Медицинский центр «Решма» Федерального медико-биологического агентства России», Ивановская область, Российская Федерация, e-mail: a.v.bodunov@gmail.com

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», г. Москва, Российская Федерация, e-mail: info@nriph.ru

[3]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново, Российская Федерация, e-mail: natanezh@mail.ru

Аннотация

Повышение качества жизни и функциональное восстановление пациентов, в том числе с хроническим болевым синдромом, необходимо для решения ряда проблем, связанных с инвалидностью. Реабилитационные центры, работа которых осуществляется на биопсихосоциальной модели, являются наиболее подготовленными лечебными учреждениями, которые успешно проводят лечение хронических неонкологических болевых синдромов, используя междисциплинарный подход. Проведена оценка эффективности и возможностей лечения хронической боли в спине на втором этапе медицинской реабилитации на базу ФГБУЗ МЦ Решма ФМБА России. Выполнен анализ 347 историй болезни взрослых пациентов, у которых одной из задач, для достижения цели реабилитации, являлось уменьшение выраженности хронического болевого синдрома в нижней части спины, связанного вертеброгенными причинами. В результате исследования выявлено, что эффективное лечение хронической боли в спине возможно не только при госпитализации пациентов с основным заболеванием, которое явилось причиной болей в спине, но и тогда, когда данный болевой синдром имеет значение для достижения целей реабилитации при нарушении повседневной и/или трудовой деятельности, причиной нарушения которой явились заболевания, не связанные с болью в спине.

Ключевые слова: общественное здоровье, противоболевая помощь, медицинская реабилитация, ботулинический токсин, спастичность.

CHRONIC BACK PAIN.
REHABILITATION CENTER AS A STAGE OF ANALGESIC CARE IN THE RUSSIAN FEDERATION

Alexander Vladimirovich Bodunov[1*], Galina Andreevna Golubeva[1], Mikhail Vladimirovich Kizeev[2], Natalia Nikolaevna Nezhkin[3]

[1*]Federal State Budgetary Healthcare Institution Reshma Medical Center of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Ivanovo Region, Russian Federation;

[2]Federal State Budgetary Scientific Institution "N.A. Semashko National Research Institute of Public Health", Moscow, Russian Federation;

[3]Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Ivanovo State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSBEI HE «Ivanovo SMU» of MOH of Russia)

Improving the quality of life and functional recovery of patients, including those with chronic pain syndrome, is necessary to solve a number of disability-related problems. Rehabilitation centers, whose work is carried out on a biopsychosocial model, are the most prepared medical institutions that successfully treat chronic non-oncological pain syndromes using an interdisciplinary approach. The evaluation of the effectiveness and possibilities of treatment of chronic back pain at the second stage of medical rehabilitation at the base of the Federal State Medical Institution MC Reshma FMBA of Russia was carried out. The analysis of 347 case histories of adult patients was performed, in which one of the tasks to achieve the goal of rehabilitation was to reduce the severity of chronic pain syndrome in the lower back associated with vertebrogenic causes. As a result of the study, it was revealed that effective treatment of chronic back pain is possible not only when hospitalizing patients with the underlying disease that caused back pain, but also when this pain syndrome is important for achieving rehabilitation goals in violation of daily and/or work activities, the cause of the violation of which were diseases unrelated to with back pain.

Keywords: public health, analgesic care, medical rehabilitation, botulinum toxin, spasticity.

Актуальность

Боль в спине остается одной из основных причин инвалидизации во всем мире, и является значимой социальной, экономической и медицинской проблемой, в т.ч. в Российской Федерации [1, 2].В настоящее время заболеваний и состояний, которые приводят к появлению болей в спине значительное количество [3, 4, 5]. Наиболее часто боли в спине встречаются в результате вертеброгенных причин [6, 7, 8].

К вертеброгенным (вертебральным) причинам относят: грыжа (пролапс) или протрузия межпозвонкового диска; спондилез; остеофиты; сакрализация или люмбализация; спондилоартроз (фасет-синдром); анкилозирующий спондилит (болезнь Бехтерева); спинальный стеноз (вторичный стеноз позвоночного канала, отмечающийся часто на фоне его врожденной узости); нестабильность позвонково-двигательного сегмента (особенно рестроспондилолистез); переломы позвонков (в том числе компрессионные на фоне остеопороза); остеопороз; первичные / вторичные опухоли позвоночника, спинного мозга и корешков; врожденные или приобретенные деформации позвоночника (кифосколиоз, сколиоз, гиперлордоз); функциональные биомеханические нарушения в межпозвонковых двигательных сегментах с нарушением двигательного стереотипа. Невертеброгенные (экстравертебральные) причины: миофасциальный болевой синдром; психогенные боли; отраженные боли в спине при болезнях внутренних органов (сердца, легких, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых органов); эпидуральный абсцесс; сирингомиелия [6, 7, 8, 9].

По патофизиологическому механизму выделяют ноцицептивную, нейропатическую и дисфункциональную боль в зависимости от уровня повреждения соматосенсорной системы [10, 11, 12]. Нейропатическая боль - это боль, которая возникает как прямое следствие поражения или заболеваний, влияющих на соматосенсорную систему [13] и является одной из наиболее изнуряющих болей, и представляет собой одну из самых сложных в решении проблем в медицине [14, 15]. По временному фактору выделяют острую (менее 6 недель), подострую (6—12 недель) и хроническую (более 12 недель) боль [11, 16, 17, 18]. Острая боль не всегда ноцицептивная, например, при остро развившейся радикулопатии с первых дней появления боль может иметь нейропатический характер с явлениями гиперестезии и аллодинии [11].

Приблизительная оценка распространенности боли с нейропатическими характеристиками в популяции, составляет от 6,9% до 10% [19, 20]. Хроническая нейропатическая боль чаще встречается у женщин (8% против 5,7% у мужчин) и у пациентов старше 50 лет (8,9% против 5,6% у лиц моложе 49 лет) и чаще всего поражает нижнюю часть спины и нижние конечности, шею и верхние конечности [20, 21]. По разным

исследованиям нейропатическая боль обнаруживается от 13% до 40% у пациентов с болью в спине и радикулопатией, что делает лечение таких больных сложной задачей [22, 23]. Новые метаанализы фармакотерапии показали, что только у 30-40% пациентов с нейропатической болью наблюдается адекватный ответ по сравнению с плацебо. Многочисленные недавние фармакологические клинические испытания при нейропатической боли не смогли продемонстрировать благоприятный эффект препаратов с ранее показанной эффективностью, и оценки эффективности препарата, снижаются с накоплением новых испытаний [14, 24, 25]. Становится все более очевидным, что простого измерения боли и оказания помощи недостаточно. Крайне важно интегрировать измерение боли, эффективность лечения и оценку качества жизни и функционального восстановления [26].

Организация противоболевой помощи в нашей стране недостаточно развита и требует пересмотра организационно правовых аспектов противоболевой помощи [27]. Современные преставления о лечении хронических неонкологических болевых синдромов требуют междисциплинарного подхода и основаны на биопсихоциальной модели [28, 29]. кроме специализированных центров боли, наиболее подготовленными лечебными учреждениями, на настоящий момент, использующие в своей работе междисциплинарный подход в лечении, являются реабилитационные центры [30, 31].

Цель работы: оценить эффективность и возможность лечения хронической боли в спине на втором этапе медицинской реабилитации.

Материалы и методы

Проведен анализ 347 историй болезни взрослых пациентов, проходившие лечение и обследование на базе ФГБУЗ МЦ Решма ФМБА России. Одной из задач для достижения цели реабилитации у каждого пациента явилось уменьшение выраженности хронического болевого синдрома в нижней части спины, связанного вертеброгенными причинами. Поставленная цель реабилитации в настоящем анализе не учитывалась. Истории болезни выбирались случайным образом. Все пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили 193 пациента, у которых основанием для направления на реабилитационное лечение явилась вертеброгенная причина их заболевания. Вторую группу составили 154 пациента с сопутствующей хронической болью в спине, связанного вертеброгенными причинами, но госпитализированные по другому заболеванию. Пациенты обеих групп сопоставимы по возрасту и полу. Всем пациентам составлена индивидуальная программа реабилитации в соответствии с клиническими рекомендациями их заболеванию. Для решения задачи уменьшения хронической боли в спине при достижении целей реабилитации использовались различные технологии – индивидуальные

занятия лечебной физической культурой, кинезотерапия с использованием подвесных систем (система «экзарта»), гидрокинезотерапия, массаж, физиолечение, в т.ч. периферическая и транскраниальная магнитная стимуляция, теплолечение, тейпирование, иглорефлексотерапия, мануальная терапия, подводное вытяжение позвоночника, медикаментозная терапия, когнитивно-поведенческая терапия. Всем пациентам оценка болевого синдрома по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) - 100 мм, диагностика нейропатического компонента боли оценивалась с помощью опросника Douleur Neuropathique 4 (DN4). Оценка проводилась в 1-й день, на 5-й день и на 10-й день госпитализации. Проведена оценка функциональной независимости, в рамках международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ) по доменам: b2801 - ощущение боли; b152 - функции эмоций (тревога и депрессия, оценка проводилась с помощью госпитальной шкалы тревоги и депрессии); d450 – ходьба; d540 - одевание, d640 - выполнение работы по дому. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения «STATISTICA v. 13.3» (TIBCO Software Inc. 2017) с использованием стандартных методов статистики. В качестве порогового уровня статистической значимости принято значение $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Первую группу составили 101 женщина (52,3%) и 92 мужчины (47,7%), средний возраст пациентов – 52,4±1,26 лет; вторую группу составили 84 женщины (54,5 %) и 70 мужчин (45,5 %), средний возраст пациентов – 55,31±2,44 лет.

Результаты тестирования по опроснику DN4 показали наличие нейропатического компонента боли в первой группе у 24,4 % (47 человек), выраженность болей по ВАШ – 67±2,3 мм; во второй группе у 13,6 % (21 человек), выраженность болей по ВАШ – 49±1,3 мм. Длительность болевого синдрома пациентов первой группы составила 6,3±0,25 года, второй 10,8±1,45 лет, данные показатели значимо отличались между группами (p=0,0000002). У всех пациентов по данным рентгенографии, магнитно-резонансной томографии, компьютерной томографии были выявлены дегенеративно-дистрофические изменения в грудном и пояснично-крестцовом отделе позвоночника. 65 человек (33,7 %) первой группы в анамнезе перенесли оперативной лечение по поводу грыжи диска. Во второй группе в анамнезе оперативное лечение в анамнезе имели 23 человека (14,9 %). Продолжительность лечения первой группы составила 12,4±койко-дня, второй группы 9,12±койко-дней. По результату осмотра и тестирования на 6-й день выявлено значимое (p=0.007) уменьшение болевого синдрома в первой группе у 76,7 % (148 человек), во торой группе у 87,7 % (135 человек), обе группы значимо отличались между собой (p=0.02). Достоверно улучшились показатели по доменам для первой группы d450 – «ходьба»

(p=0.0311), d540 – «одевание» (p=0.04), b2801 - «ощущение боли» (p=0.00011), второй группы - d450 – «ходьба» (p=0.0222), d540 – «одевание» (p=0.0288), b2801 - «ощущение боли» (p=0.00515). При тестировании на 10 день в 1-й группе достоверно (p=0.0004) положительный результат лечения наблюдается у 88,6 % пациентов (171 человек). Отмечалось снижение ощущения боли по ВАШ по сравнению с первым тестированием в среднем на 37±1,5 мм. У пациентов первой группы с нейропатическим компонентом боли динамика в среднем улучшилась на 31± 0,7 мм по ВАШ. Во 2-й группе положительный результат лечения (p=0.00124) болевого синдрома наблюдается у 93,5 % пациентов (144 человек). Снижение болевого синдрома по ВАШ составило 41±0,18 мм, у пациентов с нейропатическим компонентом боли на 27±0,1 мм. Достоверно снизилась клинически и субклинически выраженная депрессия в первой (p=0,0289) и второй (p=0.02257) группах, однако достоверного снижения клинически и субклинически выраженной тревоги не выявлено. Достоверно улучшились показатели по доменам d450 – «ходьба» (p=0.0173), d540 – «одевание» (p=0.0257), b2801 - «ощущение боли» (p=0.00001), b152 - «функции эмоций» (p=0.0001), второй группы - d450 – «ходьба» (p=0.0034), d540 – «одевание» (p=0.0034), b2801 - «ощущение боли» (p=0.0002), b152 - «функции эмоций» (p=0.0004). В первой группе без изменений было выписано 22 человека (11,4%), из них 15 человек с нейропатическим компонентом боли. Во второй группе без изменений выписано 10 человек (6,5 %). из них 6 человек с нейропатическим компонентом боли.

Выводы. Таким образом, эффективное лечение хронической боли в спине на втором этапе реабилитационных мероприятий возможно не только при госпитализации пациентов с основным заболеванием, которое явилось причиной болей в спине, но и тогда, когда данный болевой синдром имеет значение для достижения целей реабилитации при нарушении повседневной и/или трудовой деятельности, причиной нарушения которой явились заболевания, не связанные с болью в спине.

ЛИТЕРАТУРА

1. GBD 2021 Low Back Pain Collaborators. Global, regional, and national burden of low back pain, 1990-2020, its attributable risk factors, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. Lancet Rheumatol 2023: 5: e316-29.

2. Кукушкин М.Л. Диагностика и лечение неспецифической боли в спине. Медицинский совет. 2016;(8):58-63.

3. Knezevic, N. N., Candido, K. D., Vlaeyen, J. W. S., Van Zundert, J., & Cohen, S. P. (2021). Low back pain. The Lancet. doi:10.1016/s0140-6736(21)00733-9 10.1016/S0140-6736(21)00733-9.

4. Боль в спине. Клинические рекомендации / Исайкин А.И., Акарачкова Е.С., Исайкина О.Ю., Кондрашов А.А., Кирьянов М.А. — СПб.: Скифия-принт; М.: Профмедпресс, 2021. — 80 с. ISBN 978-5-98620-567-0.

5. Вёрткин А.Л., Шамуилова М.М., Кнорринг Г.Ю., Седякина Ю.В., Носова А.В., Алиев З.К. Профилактика и лечение боли в спине: Консенсусы экспертов. Доктор.Ру. 2020; 19(9): 45–52. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-9-45-52.

6. Попелянский, Яков Юрьевич Ортопедическая неврология (вертеброневрология) : руководство для врачей / Я.Ю. Попелянский. — 6-е изд. – М. : МЕД пресс-информ, 2017. – 672 с. : ил. ISBN 978-5-00030-446-4.

7. Aaron Conger, DO and others, Vertebrogenic Pain: A Paradigm Shift in Diagnosis and Treatment of Axial Low Back Pain, Pain Medicine, Volume 23, Issue Supplement_2, August 2022, Pages S63–S71, https://doi.org/10.1093/pm/pnac081.

8. Сорокин Ю.Н. Боль в спине и дегенерация межпозвонкового диска в Международной классификации болезней 11-го пересмотра. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019;119(8):153-159. https://doi.org/10.17116/jnevro2019119081153.

9. Хроническая боль в спине Электронный ресурс : клинические рекомендации : приняты на IV Конгрессе врачей первичного звена здравоохранения Юга России, IX Конференции врачей общей практики (семейных врачей) Юга России 7 ноября 2014 г., г. Ростов-на-Дону / Общероссийская общественная организация "Ассоциация врачей общей практики (семейных врачей) Российской Федерации"; . - : ил(Национальные клинические рекомендации).

10. Cohen SP, Vase L, Hooten WM. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. Lancet. 2021 May 29;397(10289):2082-2097. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00393-7. PMID: 34062143.

11. Вышлова И.А., Карпов С.М., Раевская А.И., Реверчук И.В. Реабилитация пациентов с хронической болью в нижней части спины. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022;122(6):14–19. https://doi.org/10.17116/jnevro202212206114.

12. Данилов, А. Б. Типы и патофизиологические механизмы боли - значение для клинической практики / А. Б. Данилов // Manage Pain. – 2014. – № 1. – С. 4-8.

13. Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, Baron R, Bennett DLH, Bouhassira D, Cruccu G, Freeman R, Hansson P, Nurmikko T, Raja SN, Rice ASC, Serra J, Smith BH, Treede RD, Jensen TS. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. Pain. 2016 Aug;157(8):1599-1606. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000492. PMID: 27115670; PMCID: PMC4949003.

14. Attal N, Bouhassira D, Colvin L. Advances and challenges in neuropathic pain: a narrative review and future directions. Br J Anaesth. 2023 Jul;131(1):79-92. doi: 10.1016/j.bja.2023.04.021. Epub 2023 May 18. PMID: 37210279.
15. Невропатическая боль: клинические рекомендации по диагностике и лечению Российского общества по изучению боли / О. С. Давыдов, Н. Н. Яхно, М. Л. Кукушкин и др. // Российский журнал боли. – 2018. – № 4(58). – С. 5-41.
16. Treede RD, Rief W, Barke A, Aziz Q, Bennett MI, Benoliel R, Cohen M, Evers S, Finnerup NB, First MB, Giamberardino MA, Kaasa S, Korwisi B, Kosek E, Lavand'homme P, Nicholas M, Perrot S, Scholz J, Schug S, Smith BH, Svensson P, Vlaeyen JWS, Wang SJ. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). Pain. 2019 Jan;160(1):19-27. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001384. PMID: 30586067.
17. Alleva J, Hudgins T, Belous J, Kristin Origenes A. Chronic low back pain. Dis Mon. 2016 Sep;62(9):330-3. doi: 10.1016/j.disamonth.2016.05.012. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27344193.
18. Merskey H., Bogduk N. (eds.). Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by International Association for the Study of Pain, Task Force on Taxonomy. 2nd ed. Seattle: IASP Press, 1994.
19. van Hecke O, Austin SK, Khan RA, Smith BH, Torrance N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. Pain. 2014 Apr;155(4):654-662. doi: 10.1016/j.pain.2013.11.013. Epub 2013 Nov 26. Erratum in: Pain. 2014 Sep;155(9):1907. PMID: 24291734.
20. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Kalso E, Bennett DL, Dworkin RH, Raja SN. Neuropathic pain. Nat Rev Dis Primers. 2017 Feb 16;3:17002. doi: 10.1038/nrdp.2017.2. PMID: 28205574; PMCID: PMC5371025
21. Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. Pain. 2008 Jun;136(3):380-387. doi: 10.1016/j.pain.2007.08.013. Epub 2007 Sep 20. PMID: 17888574.
22. Kim HJ, Ban MG, Yoon KB, Yang YS, Kim SH. Neuropathic pain component and its association with time elapsed since pain onset in patients with low back pain. Pain Pract. 2023 Jul;23(6):580-588. doi: 10.1111/papr.13216. Epub 2023 Mar 10. PMID: 36861853.
23. Freynhagen R, Baron R, Tölle T, Stemmler E, Gockel U, Stevens M, Maier C. Screening of neuropathic pain components in patients with chronic back pain associated with nerve root compression: a prospective observational pilot study (MIPORT). Curr Med Res Opin. 2006 Mar;22(3):529-37. doi: 10.1185/030079906X89874. PMID: 16574036.

24. Finnerup NB, Haroutounian S, Baron R, Dworkin RH, Gilron I, Haanpaa M, Jensen TS, Kamerman PR, McNicol E, Moore A, Raja SN, Andersen NT, Sena ES, Smith BH, Rice ASC, Attal N. Neuropathic pain clinical trials: factors associated with decreases in estimated drug efficacy. Pain. 2018 Nov;159(11):2339-2346. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001340. PMID: 30015707; PMCID: PMC6193835.
25. Moisset X, Pereira B, Bouhassira D, Attal N. Pregabalin: a better neuropathic pain treatment in rodents than in humans. Pain. 2020 Oct;161(10):2425-2427. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001993. PMID: 32956258.
26. Bernardo S, Lukyanova V. Chronic Pain Management Guidelines: Time for Review. AANA J. 2022;90(3):169-170.
27. Яриков А.В., Шпагин М.В., Смирнов И.И. и др. Принципы организации противоболевой помощи. Врач. 2021; 32 (2): 22-26. https^/ doi.orgH 0.29296/25877305-2021-02-04.
28. Данилов А. Б., Данилов Ал. Б. Управление болью. Биопсихосоциальный подход / А. Б. Данилов, Ал. Б. Данилов. – АММ-Пресс. – 2016. – 636 с.;
29. Данилов А. Б., Данилов Ал. Б. Алгоритм мультидоменного скрининга для пациентов с хронической неспецифической болью в спине. – Новосибирск: Новосибирский издательский дом, 2020. – 52 с. ISBN 978-5-6044260-4-3.
30. Как организовать медицинскую реабилитацию? / Г. Е. Иванова, Е. В. Мельникова, А. А. Белкин и др. // Вестник восстановительной медицины. – 2018. – № 2(84). – С. 2-12.
31. Эффективность реабилитационных мероприятий в ФГБУЗ МЦ Решма у пациентов с болью в спине / А. В. Бодунов, М. В. Кизеев, Н. Н. Нежкина и др. // Курортная медицина. – 2016. – № 2. – С. 160-163.
Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.
The authors declare no conflicts of interests.

СУРРОГАТНОЕ МАТЕРИНСТВО В РОССИИ: ОСОБЕННОСТИ ВОСПРИЯТИЯ РАЗЛИЧНЫХ СОЦИАЛЬНЫХ ГРУПП

М.В. Валеева, **к.соц.н.**

Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда No 23-28-01035, https://rscf.ru/project/23-28-01035/

Демографические проблемы в целом и бесплодие, в частности остаются одним из главных вызовов современности. По данным ВОЗ, бесплодными являются 17,5% взрослого населения [1], но достоверные данные в этой области отсутствуют как в мире, так и в России в связи со сложностью проведения исследований. Необходимо отметить, что при подсчетах учитываются только те, кто обратился за лечением, а по мнению исследователей, в медицинские учреждения обращаются не более половины получивших диагноз «бесплодие».

Развитие вспомогательных репродуктивных технологий дает шанс многим людям стать родителями. Так, в последнем опубликованном отчете регистра Вспомогательные репродуктивные технологии Российская Ассоциация Репродукции Человека (ВРТ РАРЧ), только в 2020 году, в России суррогатными матерями был рожден 741 младенец, а в 2021 – 670 [2] (в регистр ВРТ РАРЧ входят далеко не все репродуктивные центры страны), а за весь период существования суррогатного материнства – не менее 6000.

Однако институт суррогатного материнства вызывает также целый ряд этических, юридических, психологических и социальных проблем.

Суррогатное материнство является самой сложной частью вспомогательных репродуктивных технологий, как с точки зрения взаимодействия всех участников процесса, так и с точки зрения отношения общества. И в России, и за рубежом активно обсуждаются этические и правовые аспекты суррогатного материнства, при этом мотивация данного процесса исследована гораздо меньше. Кроме того, мотивы суррогатного материнства изучены значительно меньше, чем мотивы донорства гамет и эмбрионов [3].

Программы суррогатного материнства являются самыми сложными для практической реализации так как на протяжении длительного времени в процессе требуется физическое участие третьей стороны – суррогатной матери. Как суррогатные матери, так и реципиенты находятся в сложной морально-этической ситуации и на стадии принятия решения и далее, в процессе беременности, родов и определения прав на ребенка. Мотивация суррогатных матерей в наибольшей степени подвержена влиянию общественных представлений о допустимости таких практик. В связи с этим, существуют определенные барьеры суррогатного материнства.

В настоящий момент мы реализуем исследовательский проект «Суррогатное материнство: социокультурные факторы мотивации в современной России» по гранту Российского научного фонда.

Целью проекта является выявление и изучение основных социокультурных факторов, определяющих мотивацию суррогатного материнства. Одной из задач проекта является анализ отношения разных социальных групп к институту суррогатного материнства в целом и приемлемости разных по содержанию мотивов его использования.

Для решения данной задачи начале 2023 года, было проведено эмпирическое исследование методом онлайн-опроса с комбинированным типом выборки. Всего было опрошено 1300 респондентов. Место проведения опроса – г. Екатеринбург, Свердловская область.

Говоря об основных характеристиках респондентов, отметим, что все опрошенные являются жителями Екатеринбурга, достаточно репрезентативно представляющие население по части половозрастной структуры. Более половины респондентов – женщины, средний возраст опрошенных составляет 37,3 года. Также, более половины выборки – люди с высшим образованием (55%), еще четверть – люди со средним специальным образованием. Около половины опрошенных составляют специалисты и служащие, 17% - рабочие, 12% - руководители разного уровня. Более половины опрошенных (64%) состоят в браке (в том числе «гражданском», без регистрации), еще одна пятая часть (21%) – холостые/незамужние. У 62% респондентов есть ребенок или несколько детей, более половины опрошенных (63%) имеют личный доход от 25 до 80 тысяч рублей в месяц.

В целом, отметим, что более половины опрошенных считают, что для сохранения и увеличения численности населения России следует предпринимать следующие меры: стимулировать рождаемость специальными программами, субсидиями, работать над увеличением продолжительности жизни, использовать медицинские технологии помощи бесплодным женщинам и мужчинам. Около половины мужчин при этом не считают, что нужно использовать медтехнологии, скорее нужно создать условия для возвращения русскоязычного населения из других стран, в этом мужское мнение отличаются от женского. Интересно также, что имеющие детей респонденты в 1,5 раза чаще акцентируют внимание на том, что нужно создавать культ многодетной семьи (по сравнению с теми, у кого детей нет).

Что касается результатов, относительно непосредственно отношения общества к институту суррогатного материнства, то стоит отметить следующее: во-первых, подавляющее большинство опрошенных знают о таких методах ВРТ как: суррогатное материнство (наиболее известное), экстракорпоральное оплодотворение (оплодотворение в искусственных условиях, «в пробирке») и использование донорской спермы (свыше 75%). Об остальных методах ВРТ знают

лишь менее половины опрошенных, при этом только 3% совершенно не осведомлены ни о чем (чаще всего это мужчины). Женщины лучше мужчин осведомлены о методах ВРТ.

Во-вторых, каждый второй опрошенный считает, что суррогатное материнство может помочь людям стать родителями желанного ребенка, и это – главное. В полтора раза реже упоминаются такие мнения, которые связаны с определенным регламентированием суррогатного материнства: «Эта деятельность должна быть более четко регламентирована государством» (32%, при этом за это значимо чаще выступают женщины и люди старше 40 лет) и «Суррогатное материнство должно быть доступно только по медицинским показаниям» (30%).

В-третьих, подавляющее большинство опрошенных считают, что женщины становятся суррогатными матерями, потому что хотят заработать денег (так считают 78%). Эту и другую денежную мотивацию («Вынуждены искать деньги для решения финансовых проблем, выплаты кредитов») чаще упоминают люди старше 40 лет, тогда как молодежь достаточно часто (58%) упоминает альтруистический мотив суррогатного материнства («Хотят помочь другим женщинам/парам стать родителями»). В целом данный вариант относительно менее популярен (38% всех опрошенных)

Далее, более половины опрошенных считают приемлемыми мотивам суррогатного материнства мотив помощи другим людям стать родителями (67%, особенно популярно это мнение среди женщин и среди молодежи до 30 лет), а также мотив заработать денег с целью улучшить собственную жизнь (61%, наиболее приемлем и понятен для мужчин и людей старше 40 лет).

Также отметим, что поддержка запрета на суррогатное материнство в России среди опрошенных невысокая – только 19% респондентов поддерживают запрет, тогда как более половины (57%) не поддерживают его. При этом каждый четвертый затрудняется ответить на этот непростой вопрос. Поддерживают запрет чаще те люди, у которых есть дети.

Сейчас обсуждается возможность профессионального суррогатного материнства в России. В связи с этим рассмотрим мнение опрошенных по аспектам данного вопроса. Большинство (71%) согласны с тем, что суррогатное материнство должно регулироваться на государственном уровне, при этом условное большинство (41%) не поддерживают идею о том, что суррогатное материнство должно быть профессией. Однако более трети (39%) считают, что задачу реализации суррогатного материнства как профессии необходимо решить в ближайшее время. При этом здесь вновь важно подчеркнуть неопределенность ответов и сложность самого вопроса для многих людей (33% затрудняются ответить).

Далее обозначим, что основное препятствие использования россиянами ВРТ и суррогатного материнства, по мнению большинства (74%), – это отсутствие средств. Особенно часто (и статистически значимо) так считают женщины. Лишь на втором месте с большим

отставанием в 1,5 раза следует такое препятствие как недостаток информации (более характерно для мужчин и людей до 40 лет). На третьем месте идет негативное отношение/боязнь осуждения – его упомянули в качестве препятствия почти половина опрошенных (49%, значимо чаще это встречается среди молодёжи до 30 лет).

Наконец, стоит отметить, что в целом, ко всем методам ВРТ опрошенные относятся положительно (преимущественно отвечают «скорее положительно»). Так, 70% респондентов положительно относятся к донорству спермы и донорству яйцеклеток (отрицание встречается нечасто, 10%). 62% опрошенных положительно относятся к суррогатному материнству. Наиболее неоднозначное и неопределенное мнение зафиксировано по отношению к донорству эмбрионов (45% положительно (чаще среди молодежи), 36% отрицательно и очень многие (28%) затрудняются ответить).

Таким образом, в целом отношение к ВРТ среди жителей Екатеринбурга достаточно однородное, независимо от социально-демографических особенностей опрошенных.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ: бесплодием страдает каждый шестой человек в мире [Электронный ресурс]. - URL: https://www.who.int/ru/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Бесплодием%20страдает%20около%2017%2C5,и%20высококачественным%20методам%20лечения%20бесплодия (дата обращения: 15.01.2024)
2. Регистр ВРТ. Отчет за 2021 год / Общероссийская общественная организация «Российская Ассоциация Репродукции Человека», Санкт-Петербург, 2023 г.
3. Deomampo D. Transnational Reproduction: Race, Kinship, and Commercial Surrogacy in India. - New York: University of New York Press, 2016. - 288 p.

МЕЖСЕКТОРАЛЬНЫЙ ПОДХОД ПРИ РЕШЕНИИ ЗАДАЧ НАЦИОНАЛЬНЫХ ЦЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ СИСТЕМЫ ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ

Я.И. Вигдорчик[1], В.В. Боровиков[2], А.Л. Линденбратен[1]

[1]ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н. А. Семашко» Минобрнауки России, 105064, г. Москва, Российская Федерация

[2] ООО «Эллара», 601122, Владимирская область, Петушинский район, г. Покров, ул. Франца Штольверка, д. 20

Национальные цели развития Российской Федерации на период до 2030 года утверждены указом Президента Российской Федерации от 21.07.2020 № 474. К медицинской области научного знания прямое отношение имеет задача «сохранение населения, здоровье и благополучие людей». Достижение этой цели лежит вне рамок одного только сектора здравоохранения, а является межсекторальным предметом, что отражено в соответствующих национальных проектах «Демография», «Жилье и городская среда», «Экология».

Вопросы сохранения здоровья населения интересовали еще Михаила Васильевича Ломоносова – известного отечественного научного деятеля. До наших дней дошел текст его трактата «О размножении и сохранении российского народа», который посвящен рассмотрению различных аспектов демографической политики государства [1]. Стоит отметить, что в трактате работа над оздоровлением образа жизни населения указано как одно из направлений достижения национального благополучия. Это подтверждает большое, в том числе и историческое, значение этого направления для нашей страны.

В настоящее время организация формирования у граждан мотивации к ведению здорового образа жизни (ЗОЖ) весьма актуальна, так как прямо связана с достижением задач федерального проекта «Укрепление общественного здоровья» национального проекта «Демография». По итогам совещания о реализации национальных проектов 5 декабря 2023 года было принято решение об актуализации действующих национальных проектов для их реализации в 2025–2030 годах, что позволяет говорить об определенной успешности выбранного межведомственного формата решения подобного рода задач.

Наша работа посвящена разработке научно обоснованных предложений по совершенствованию организации формирования образа жизни разных групп граждан. Формирование должного уровня мотивации к ведению ЗОЖ различными способами рассматривается в настоящее время как одно из наиболее перспективных направлений решения проблемы малого числа граждан, ведущих ЗОЖ. Активное формирование мотивации может происходить путем мотивирования и, в частности, стимулирования. Ниже представлены

определения этих терминов: «*мотивирование* - процесс формирования группы мотивов, обуславливающих определенное поведение человека»;

«стимулирование - процесс воздействия на человека с применением позитивных или негативных стимулов различного характера, с целью возникновения у него определенных мотивов» [2].

Стоит отдельно остановиться на 2 ключевых направлениях организации мотивирования граждан к ЗОЖ: мотивирование лиц школьного возраста и мотивирование совершеннолетних лиц, с особым акцентом на работающих гражданах.

Проблема низкой мотивации детей школьного возраста к ведению ЗОЖ является межсекторальной, поэтому для ее решения необходимы совместные усилия представителей, по меньшей мере, 2 секторов – здравоохранения и образования (рисунок 1). Руководствуясь межсекторальным подходом, коллективом авторов (Вигдорчик Я.И., Алферова О.Н. под руководством Линденбратена А.Л.) была проведена работа по изучению основных аспектов образа жизни 3 психолого-возрастных групп школьников, с целью разработки рекомендаций по совершенствованию организации формирования мотивации к ведению ЗОЖ в конкретной образовательной организации, которые были использованы в практической деятельности Управления образования исполнительно-распорядительного органа муниципального образования [3]. Важно отметить большое значение совместной работы с руководством муниципального образования при решении подобных вопросов, ведь только таким образом можно обеспечить организацию и проведение исследования в полном соответствии с современными требованиями и нормами.

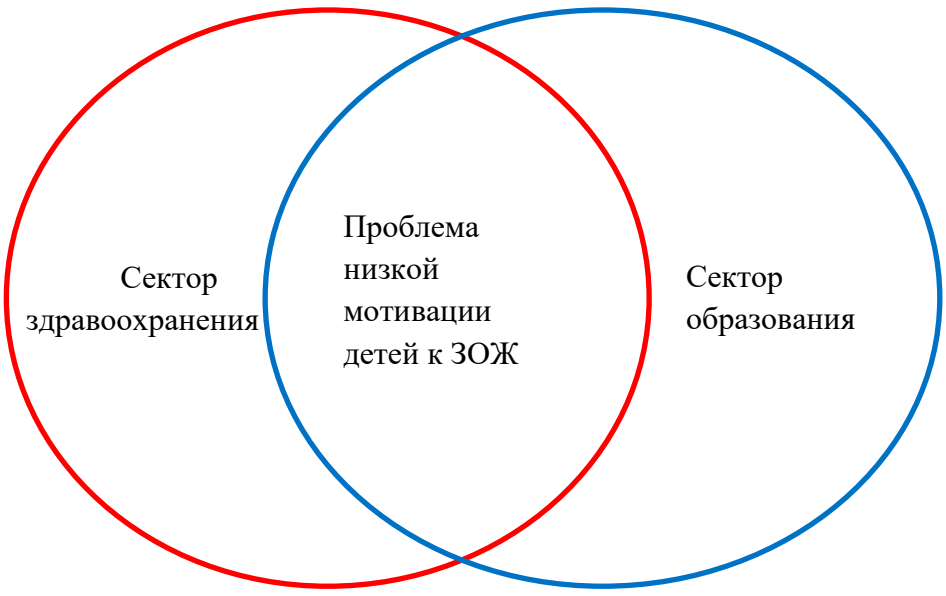


Рисунок 1. Проблема низкой мотивации детей к ЗОЖ - пример межсекторальной проблемы

Трудно переоценить роль межсекторального взаимодействия при решении вопроса охраны здоровья трудящихся граждан. В недавнем исследовании учеными Центрального

экономико-математического института Российской академии наук был рассчитан ущерб национальной экономике, вызванный преждевременной смертностью, он был оценен в 15-24 трлн рублей в год [4]. Таким образом, сокращение преждевременной смертности представляется одним из основных путей снижения экономического и социального ущерба. Достичь этого возможно путем совершенствования организации всех видов медицинской помощи, в особенности первичной медико-санитарной помощи, с акцентом на профилактическом аспекте. Современная корпоративная охрана здоровья работников ключевых отраслей немыслима без программ укрепления здоровья. Вопрос совершенствования таких программ также относится к межсекторальным. Лишь путем успешной кооперации можно обеспечить получение медицинского, социального, экономического результатов. Тенденция к повышению важности роли работодателей в охране здоровья сотрудников отмечена ведущими аналитиками мира [5]. Использование наукоемких решений при совершенствовании охраны здоровья работников позволяет не только повышать продуктивность рабочей силы, но и в некоторой степени конкурентоспособность организации.

Коллективом авторов (Вигдорчик Я.И., Боровиков В.В. под руководством Линденбратена А.Л.) было проведено исследование аспектов образа жизни работников фармацевтической компании с целью разработки рекомендаций по совершенствованию корпоративной программы укрепления здоровья [6]. Причиной для выбора конкретной фармацевтической компании послужил тот факт, что 4/5 производимых на предприятии лекарственных средств (ЛС) входят в перечень ЖНВЛП, то есть невероятно важны для сохранения лекарственного суверенитета, обеспечивающего здоровье и благополучие граждан Российской Федерации (рисунок 2).

Рисунок 2. Роль межсекторального подхода в достижении национальных целей развития Российской Федерации

Одним из важнейших результатов исследования являются научно обоснованные рекомендации по повышению качества организации корпоративной программы укрепления здоровья, учитывающие выявленное влияние полового фактора на конкретные аспекты образа жизни (рисунок 3), которые стали основой для принятия соответствующих управленческих решений.

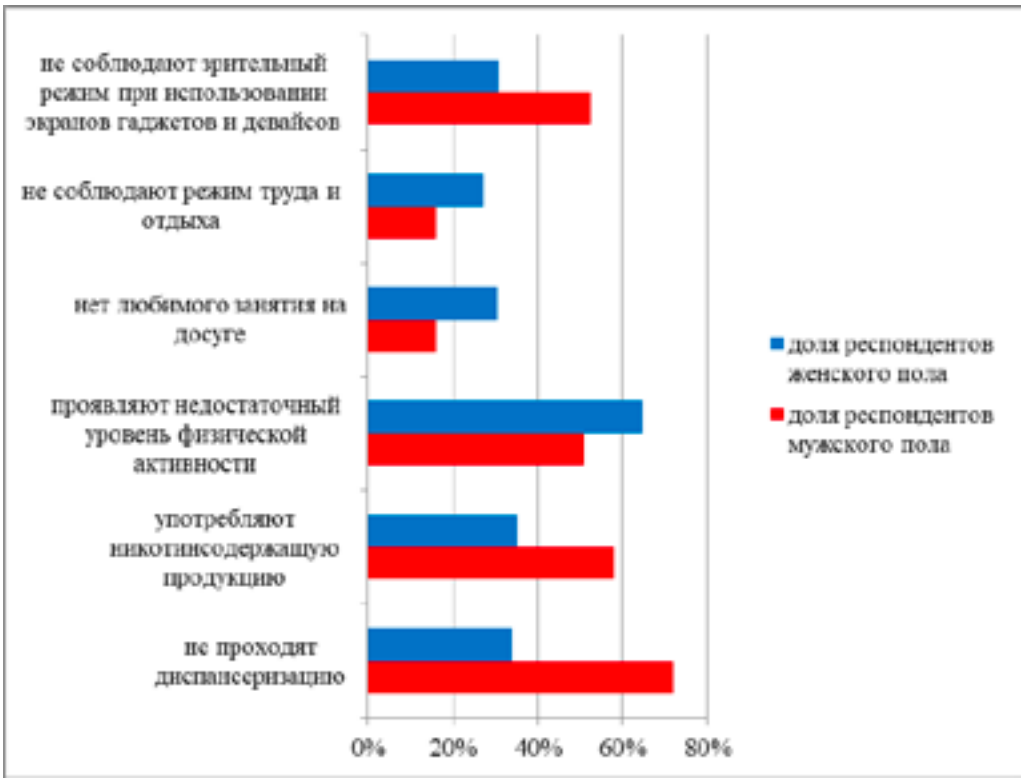


Рисунок 3. Выявленные различия среди представителей различных половых групп [6]

Центральную, связующую роль при решении межсекторальных проблем выполняет сектор науки. Именно представители научного сектора способны наладить кооперацию между представителями различных сфер деятельности при решении межсекторальных задач, связанных с достижением национальных целей развития Российской Федерации. Роль научного координатора в подобных процессах принадлежит Российской академии наук, которая успешно выполняет эту функцию уже 300 лет. При решении национальных задач, связанных с медицинской областью научного знания, научно-методическое руководство осуществляется отделением медицинских наук, предшественнику которого - Академии медицинских наук СССР в этом году исполняется 80 лет. Последовательная реализация плана мероприятий Десятилетия науки и технологий позволит достичь повышения эффективности и результативности научных межсекторальных кооперации, прямо связанных с важнейшими областями развития нашего общества и государства, что имеет огромное значение в современных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Избранные философские произведения / М. В. Ломоносов; под общ. ред. и с предисл. Г. С. Васецкого; Московский гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, Каф. истории русской философии. – М.: Госполитиздат, 1950. – 759 с.
2. Вигдорчик Я. И., Линденбратен А. Л. Теоретические основы системы мотивирования и стимулирования граждан к здоровьесохраняющему поведению // Бюллетень Национального научноисследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко. – 2021. – № 2. – С. 44–49.
3. Вигдорчик Я. И., Алферова О. Н. Некоторые аспекты мотивирования школьников к ведению здорового образа жизни // Здравоохранение Российской Федерации. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 244-251.
4. Варшавский А. Е., Кузнецова М. С. Оценка экономического ущерба при сокращении продолжительности жизни людей в результате основных видов заболеваний // Национальные интересы: приоритеты и безопасность. – 2023. – Т. 19, № 12. – С. 2206-2236.
5. 2024 Outlook for Health Care Planning for the Future of Health: Top trends for 2024. URL: https://www2.deloitte.com/us/en/blog/health-care-blog/2023/outlook-for-health-care.html/#:~:text=Adopting%20new%20technologies%20and%20business,adapt%20to%20the%20new%20environment.
6. Вигдорчик Я. И., Боровиков В. В. Современные подходы к совершенствованию корпоративной системы охраны здоровья трудящихся // Бюллетень Национального научноисследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко. – 2023. – № 3. – С. 127–131.

АВТОМАТИЗАЦИЯ STOPP/START-КРИТЕРИЕВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОЛИПРАГМАЗИИ У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

О.Д. Духанина

ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва

Введение

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет полипрагмазию как «прием многих лекарств одновременно или прием чрезмерного количества лекарств».

В систематическом обзоре 2017 года, опубликованном в BMC Geriatrics и включившем в себя обзор 110 литературных источников было выделено 111 определений понятия "полипрагмазия". При этом количество получаемых лекарственных средств, подходящих под понятие "полипрагмазия" разнилось от более или равно 2 до более или равно 11. Также была выделена следующая классификация полипрагмазии:

1. Малая полипрагмазия (minor): до 4
2. Средняя полипрагмазия (moderate):4-5
3. Большая полипрагмазия (major): по разным данным ≥ 5, ≥ 6, от 5 до 9, ≥ 11
4. Гиперполипрагмазия (hyperpolypharmacy): ≥ 10
5. Избыточная полипрагмазия (excessive polypharmacy): по разным данным ≥ 10, ≥ 21
6. Тяжелая полипрагмазия (severe polypharmacy): ≥ 10

В Российской Федерации, согласно приказу Минздрава России от 02.11.2012 № 575н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «клиническая фармакология» полипрагмазия – это одновременное назначение больному 5 и более наименований ЛС или свыше 10 наименований при курсовом лечении.

В систематическом обзоре 2022 года, также опубликованном в BMC Geriatrics и включившем в себя обзор 106 литературных источников было выделено 94 исследования, описывающие данные о распространенности полипрагмазиии. Из них в 54 исследованиях были приведена информация о суммарной полипрагмазии (без деления на классы лекарственных веществ). При этом совокупная оценочная распространенность полипрагмазии составила 37% (95% ДИ: 31–43%).

Традиционными методами борьбы с необоснованно назначенными лекарственным препаратами являются:

1. STOPP-критерии – 80 критериев по пересмотру 2015 года;
2. Критерии Бирса – 12 групп препаратов и 12 групп заболеваний, при которых существуют потенциально нерекомендованные препараты;
3. Индекс рациональности применения лекарственных средств (Medication Appropriateness Index) – 10 критериев;

4. Шкала антихолинергической нагрузки – 59 препаратов;
5. Алгоритм «Паллиативный подход к решению проблемы полипрагмазии у пожилых пациентов» – 6 вопросов.
6. Список потенциально не рекомендованных лекарственных средств для пожилых пациентов PRISCUS list – 187 лекарственных средств, риск развития побочных эффектов которых превышает пользу при применении у пожилых пациентов.
7. Список потенциально не рекомендованных лекарственных средств для пожилых пациентов FORTA list – 267 лекарственных назначений, согласованных по 27 показаниям.

Большое количество критериев в подобных перечнях затрудняет их применение на практике для оптимизации лекарственной терапии у пожилых. Для решения этой проблемы применяется автоматизация данных перечней при помощи создания компьютеризированных систем поддержки принятия решений.

Первой системой поддержки принятия врачебных решений (СППВР), рассмотренной нами, являлась «Medsafer». В ней были алгоритмизированы и автоматизированы следующие подходы: STOPP-критерии, критерии Бирса, лист рекомендаций Choosing Wisely и научная литература по депрескрайбингу. После внедрения данной СППВР были получено статистически значимое увеличение доли пациентов с отменой назначения одного или нескольких потенциально не рекомендованных препаратов (54,7% против 46,9%).

СППВР «PIM-Check» включала в себя индивидуально разработанный список потенциально не рекомендованных препаратов, её внедрение привело к статистически не значимое влияние на количество проблем, связанных с лекарственными средствами (2,9 против 3,2, $p = 0,12$).

В СППВР «TRIM» были автоматизированы следующие методы борьбы с полипрагмазией: STOPP-критерии, критерии Бирса, анализ выполнимости режима лечения и не рекомендованное почечное дозирование. Внедрение СППВР привело к статистически не значимое влияние на количество принимаемых лекарственных средств и на снижение количества потенциально не рекомендованных препаратов.

В СППВР «SMART» был включён ограничительный перечень потенциально не рекомендованных препаратов критерии Бирса. По результатам внедрения СППВР было выявлено отсутствие значительного негативного влияния на рабочий процесс.

В СППВР «STRIP Assistant» были автоматизированы ограничительный перечень STOPP/START-критериев и база данных межлекарственных взаимодействий. Внедрение «STRIP Assistant» привело к значительному увеличению доли правильных клинических решений с 58% до 76% ($p < 0,0001$) и снижению доли неправильных клинических решений с 42% до 24% ($p < 0,0001$).

В СППВР «RXplore» была разработана и автоматизирована база данных нежелательных лекарственных явлений, внедрение которой не привело к статистически значимым результатам.

В СППВР «PRIMA-EDS» вошло 4 подхода к коррекции полипрагмазии: список потенциально не рекомендованных препаратов, база данных межлекарственных взаимодействий SFINX, RISKBASE – анализ нежелательных лекарственных реакций и RENBASE – дозирование лекарственных средств при почечной недостаточности. Внедрение программы выявило статистически значимое уменьшение количества препаратов, не оказывающих отрицательного влияния на исходы лечения ($p < 0,001$); отсутствие существенной разницы в количестве незапланированных госпитализаций или смертей через 24 месяца (44,6% против 48,4%, $p = 0,19$).

В СППВР «INTERcheck®» были включены три направления: база данных межлекарственных взаимодействий, критерии Бирса, шкала антихолинергической нагрузки. Результатом внедрения программы стало статистически значимое снижение числа пациентов хотя бы с одним потенциально нерекомендованным препаратом ($p < 0,001$).

В СППВР «SENATOR software» были включены STOPP/START-критерии, база данных межлекарственных взаимодействий и показаний для назначения лекарственных препаратов, система CIRS-G (Cumulative Illness Rating Scale for geriatrics) и инструмент Optimal Evidence-Based Non-drug Therapies in Older People. После внедрения программы 73,6% рекомендаций признаны соответствующими клиническим рекомендациям.

Цель исследования

Целью настоящего исследования стало создание и апробация системы поодержки принятия врачебных решений на основе STOPP/START-критериев и шкалы антихолинергической нагрузки для коррекции полипрагмазии у пожилых пациентов.

Материалы и методы

В нашем исследовании система поддержки принятия врачебных решений включила в себя ограничительный перечень STOPP/START-критериев и шкалу антихолинергической нагрузки.

Дизайн исследования состоял из 5 этапов:

1. Актуализация STOPP/START-критериев
2. Кодирование STOPP/START-критериев
3. Создание системы поддержки принятия решений
4. Внедрение СППР (проспективное исследование)
5. Сравнение полученных результатов с ретроспективными данными

Критериями включения в исследование были: госпитализация в терапевтические отделения медицинского центра, возраст на момент госпитализации 65 лет и старше, назначение 5 и более лекарственных препаратов, срок госпитализации >24 часов, информированное согласие об участии в исследовании, отсутствие критериев невключения.

Критериями невключения в исследование были: возраст на момент госпитализации менее 65 лет, назначение химиотерапии по поводу активного рака, острый период

ишемического инсульта и инфаркта миокарда, пациенты с тяжелыми когнитивными нарушениями, срок госпитализации ≤24 часов.

При актуализации списка STOPP/START-критериев были проанализированы данные 121 литературного источника было выявлено, что из 80 STOPP-критериев 1 критерий потерял свою актуальность, формулировка 11 была уточнена; из 34 START-критериев 1 критерий потерял свою актуальность, формулировка 12 была уточнена.

Для кодирования 79 STOPP-критериев было использовано 420 кодов по международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) и 878 кодов по анатомо-терапевтическо-химической классификации (АТХ), при кодировании 33 START-критериев было использовано 198 кодов по МКБ-10 и 185 кодов по АТХ классификации.

Для сбора полной анамнестической информации о пациенте в СППВР были добавлены следующие дополнительные вопросы:

1. Калькулятор скорости клубочковой фильтрации;
2. Калькулятор клиренса креатинина;
3. Есть у пациента в анамнезе: постуральная гипотензия, падения, частые приступы гипогликемии, гипонатриемия, гипокалиемия.

Для алгоритмизации шкалы антихолинергической нагрузки лекарственным средствам было присвоено 59 кодов по АТХ классификации.

В проспективную группу исследования вошло 99 пациентов терапевтического и неврологического отделений, средний возраст которых составил 75,9±7,48 лет, среднее количество баллов Чарльсон было 7,2±3,4, а среднее количество лекарственных средств на человека – 10±3,1.

В ретроспективную группу исследования вошло 162 пациента терапевтического и неврологического отделений, средний возраст которых составил 77,8±8,33 лет, среднее количество баллов Чарльсон было 6,8±2,8, а среднее количество лекарственных средств на человека – 9,8±2,65.

Результаты

Результаты исследования в проспективной группе (сравнение показателей до и после внедрения СППВР – все анализируемые показатели статистически значимо снизились)

Критерий	До	После	Т-критерий Вилкоксона, p
Количество ЛС на 1 человека	10,02	8,283	3380, p <0,001
Количество STOPP	0,818	0,081	1378, p<0,001

Количество START	2,667	0,556	4656, p<0,001
Количество баллов по шкале антихолинергической нагрузки	1,455	1,030	800,5, p<0,001

Результаты исследования-сравнения показателей в ретроспективной с данными после внедрения СППВР (все анализируемые показатели, кроме количества баллов по шкале антихолинергической нагрузки, были статистически значимо ниже в группе после внедрения СППВР).

Критерий	Ретроспективная группа	Проспективная группа	U-критерий Манна-Уитни, p
Количество ЛС на 1 человека	9,802	8,283	5566,5; p<0,001
Количество STOPP	1,179	0,081	2906,0; p<0,001
Количество START	3,191	0,556	513,5; p<0,001
Количество баллов по шкале антихолинергической нагрузки	1,500	1,030	6763,5, p=0.027

Заключение

В исследовании была проведена апробация СППВР, включающей в себя автоматизированную проверку фармакотерапии на наличие STOPP/START-критериев и на количество баллов по шкале антихолинергической нагрузки. Приложение выявило высокий уровень значений показателей, который статистически значимо уменьшился после внедрения СППВР. Согласно литературным данным и настоящему исследованию наилучшие результаты показывают СППВР, использующие несколько подоходов одновременно.

ВОПРОСЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СТРАТЕГИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ МОНИТОРИНГА ДОСТИЖЕНИЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ ЦЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ В РОССИИ

А.А. Загоруйченко

ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Москва, Россия

Актуальность проблемы

В последние годы вопросы совершенствования стратегического планирования в территориальном здравоохранении страны становятся наиболее актуальными, поскольку в условиях ограниченности бюджетного финансирования необходимо учитывать усиление влияния новых вызовов и факторов в системе [1-8]. Учитывая ситуацию, сложившуюся после пандемии новой коронавирусной инфекции, в рамках Распоряжения Правительства РФ от 01.10.2021 г. № 2765-р были внесены некоторые изменения в нацпроекты и регламентирована одна из основных стратегических целей – сохранение населения, здоровье и благополучие человека, в рамках которой необходимо «обеспечить устойчивый рост численности населения, повысить ожидаемую продолжительность жизни до 78 лет и увеличить долю граждан, систематически занимающихся физической культурой и спортом до 70%»[1].

Цель настоящего исследования – изучить и проанализировать факторы, влияющие на достоверность информации о показателях общественного здоровья населения в условиях мониторинга достижения целевых индикаторов нацпроектов, и внести соответствующие предложения.

В качестве материалов для проведения анализа были применены: статистические данные из сборников Росстата и Министерства здравоохранения Российской Федерации, субъектов России; нормативно-правовые документы; открытые данные информационных агентств; отечественные и зарубежные источники литературы.

Результаты исследования

На первом этапе исследования были проанализированы теоретические основы понятия «Стратегический анализ в здравоохранении», определена неразрывная взаимосвязь

[1] Распоряжение Правительства Российской Федерации от 01.10.2021 № 2765-р «Единый план по достижению национальных целей развития Российской Федерации на период до 2024 года и на плановый период до 2030 года». – URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202110110015 (дата обращения: 30.01.2024).

представленных понятий «стратегическое планирование», «стратегическая инициатива», «концепция», «системный анализ», «стратегия» и др. [1-6] (рис. 1).

Рисунок 1. Теоретические основы понятия «Стратегический анализ в здравоохранении»

На следующем этапе проведен анализ нормативно-правовой базы, определяющей вопросы стратегического планирования в здравоохранении, особенно анализ выполнения нацпроектов «Демография» и «Здравоохранение».

Задачи, поставленные в ходе выполнения данных нацпроектов, имеют особую значимость, в частности такие как: снижение смертности населения, увеличение численности населения, создание комфортных условий для их проживания, а также повышение ожидаемой продолжительности жизни граждан до 78 лет. Следует подчеркнуть, что на федеральном уровне были запланированы мероприятия, не всегда совпадающие с теми же задачами в субъектах РФ; тем не менее эти документы иногда носили противоположный характер; в ходе проведенного исследования рассмотрена динамика утвержденных документов (табл. 1).

Таблица 1. Стратегические цели и запланированные значения целевых индикаторов в рамках реализации нацпроекта «Демография»

Документ	Стратегические цели	Целевые индикаторы (показатели)
Указ Президента РФ от 07.05.2018 г. № 204[2]	1) обеспечить устойчивый естественный рост численности населения РФ 2) повысить ожидаемую продолжительности жизни до 78 лет	1) повысить ожидаемую продолжительность здоровой жизни до 67 лет; 2) увеличить суммарный коэффициент рождаемости до 1,7 3) увеличить долю граждан, ведущих ЗОЖ 4) увеличить долю граждан, систематически занимающихся спортом до 55%
Указ Президента РФ от 21.07.2020 г. № 474[3]	Сохранение населения, здоровье и благополучие людей	1) устойчивый рост численности населения РФ 2) повышение ожидаемой продолжительности жизни до 78 лет 3) увеличение доли граждан, систематически занимающихся физической культурой и спортом до 70%

Указ Президента от 21.07.2020 г. № 474 показал различия в предложенных целевых индикаторах, несогласованность в поставленных целях, а также разночтения в используемых формулировках, таким образом, необходимо формирование единого видения при реализации запланированных мероприятий нацпроектов и приведение в соответствие целей и индикаторов.

В ходе исследования были проанализированы современные тенденции медико-демографической ситуации в стране и показатели заболеваемости болезнями системы кровообращения, а также определены факторы, влияющие на достоверность информации о

[2] Указ Президента Российской Федерации от 07.05.2018 №-204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года». – URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201805070038 (дата обращения: 30.01.2024).

[3] Указ Президента Российской Федерации от 21.07.2020 № 474 «О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года». – URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202007210012 (дата обращения: 30.01.2024).

показателях общественного здоровья населения в условиях мониторинга достижения целевых индикаторов нацпроектов; весьма актуальными становятся вопросы предоставления качества и достоверности полученной информации (таблица 2).

Таблица 2. Факторы, влияющие на достоверность информации о показателях общественного здоровья населения в условиях мониторинга достижения целевых индикаторов

№ п/п	Наименование фактора	Содержание	Предложения
1.	Нормативно-правовые основы использования информации	1) Уровень управления или принятия управленческого решения при использовании и анализе данных. 2) Степень открытости и полноты предоставления информации. 3) Методологические принципы и способы использования данных.	Регламентировать принципы открытости и предоставления статистической информации на законодательном уровне, в т.ч. при дистанционном формате работы в условиях распространения новой коронавирусной инфекции
2.	Заинтересованные стороны	1) Степень достоверности представленных данных. 2) Уровень профессионализма и ответственность заинтересованных сторон. 3) Открытость источников предоставления информации. 4) Наличие или отсутствие информационных систем и сервисов и соответствующего технического персонала	Обеспечить информационную безопасность системы хранения статистических данных, в т.ч. при дистанционном формате работы в условиях распространения новой коронавирусной инфекции
3.	Источники получения информации	1) Алгоритм поиска и предоставления данных 2) Степень открытости и полноты предоставления информации. 3) Наличие или отсутствие информационных систем и сервисов и соответствующего технического персонала	Регламентировать принципы открытости и предоставления информации и организовать систему контроля получения информации на всех уровнях управления, в том числе при дистанционном формате работы персонала

Заключение

Таким образом, проведённое исследование позволит выявить пути повышения достоверности и полноты актуальной информации на основе применения сформулированных предложений на различных уровнях управления в новых условиях работы всей системы здравоохранения в Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щепин В. О., Загоруйченко А. А. Теоретическое обоснование понятия «Стратегический анализ в здравоохранении» // Ремедиум. – 2022. – № 2. – Т. 26. – С. 143—146. doi: 10.32687/1561-5936-2022-26-2-143-146
2. Сергеева Н. М. Особенности применения стратегического анализа в учреждениях здравоохранения // Региональный вестник. – 2019. – № 1. – С. 45—47.
3. Щепин О. П., Жиляева Е. П., Калинина А. М. и др. Терминология по общественному здоровью и здравоохранению. – М.; 2008. –107 с.
4. Филатов В. Б. Стратегия развития регионального здравоохранения: опыт формирования. – М.; 1999. – 176 с.
5. Бацина Е. А., Попсуйко А. Н., Артамонова Г. В. Применение основ стратегического менеджмента в практике здравоохранения (обзор) // Сибирский медицинский журнал. – 2019. – Т. 34. – № 4. – С. 62—71. DOI: 10.29001/2073-8552-2019-34-4-62-71
6. Орбакай Л. Ж., Тинасилов М. Д. Стратегический менеджмент в здравоохранении // Наука и инновационные технологии. – 2018. – № 3. – С. 57—59.
7. Стародубов В. И., Кадыров Ф. Н., Обухова О. В. и др. Российское здравоохранение на фоне коронавируса COVID-19: возможности и угрозы // Менеджер здравоохранения. – 2020. –№ 5. – С. 68—78.
8. Тимербулатов В. М., Тимербулатов М. В. Здравоохранение во время и после пандемии COVID-19 // Вестник академии наукРеспублики Башкортостан. – 2020. –Т. 35. – № 2. – С. 77—86. DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10209

ОПЫТ ВНЕДРЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ СТАНДАРТОВ ИНФОРМАТИЗАЦИИ В КЛИНИКЕ: РИСКИ И ВОЗМОЖНОСТИ

А.А. Звегинцева, Р.Ф. Шавалиев, Д.М. Алтынбаева, И.А. Гаврилов

Внедрение современных стандартов информатизации в клинике является неотъемлемой частью современной медицинской практики. Это позволяет улучшить качество оказания медицинской помощи, оптимизировать процессы управления и обеспечить более эффективное взаимодействие между медицинским персоналом, пациентами и администрацией. Внедрение современных стандартов информатизации также способствует повышению качества и безопасности, а также конфиденциальности медицинских данных, что является крайне важным аспектом в сфере здравоохранения.

В 2022 году Республиканская клиническая больница (РКБ) Татарстана прошла международную сертификацию HIMSS, которая подтверждает соответствие стандартам цифровой клиники. HIMSS (Healthcare Information and Management Systems Society) – крупнейшая международная некоммерческая организация, главный консультант и лидер мнений в области информатизации экосистемы здравоохранения. В течение более 60 лет HIMSS собирает и делится актуальными знаниями о передовых методах использования информационных технологий в медицинской сфере. [1]

РКБ Татарстана сегодня - новая модель цифровой трансформации многопрофильной клиники, которая обеспечивает гарантию минимизации человеческого фактора и высокой безопасности пациента и сотрудников на всех этапах лечения в соответствии с международными стандартами.

Идеология HIMSS EMRAM заключается в том, что применение цифровых технологий для обработки информации существенно повышает уровень безопасности пациентов и удовлетворённость медицинского персонала. Это достигается путём внедрения электронного документооборота, облегчения доступа к упорядоченной информации, устранения дублирования данных, обеспечения удобного доступа и сокращения возможности ошибок при внесении, передаче и анализе медицинских данных.

Уровни HIMSS EMRAM описывают различные этапы внедрения информационных технологий в медицинских организациях. Начальные уровни (с первого по пятый) могут быть присвоены на основе удалённого анкетирования и не подтверждаются сертификатом HIMSS EMRAM. В отличие от них, шестой и седьмой уровни имеют определённую ценность и авторитет, и поэтому присуждаются только после очного аудита клиники экспертной комиссией [2]. РКБ Татарстана подтвердила шестой уровень HIMSS EMRAM.

Гарантирование соответствия процессов больницы стандартам HIMSS EMRAM было осуществлено через полноценный проект, в который непосредственно вовлечён проектный офис. Цепочка регуляции и совершенствования проекта показана на рис.1.

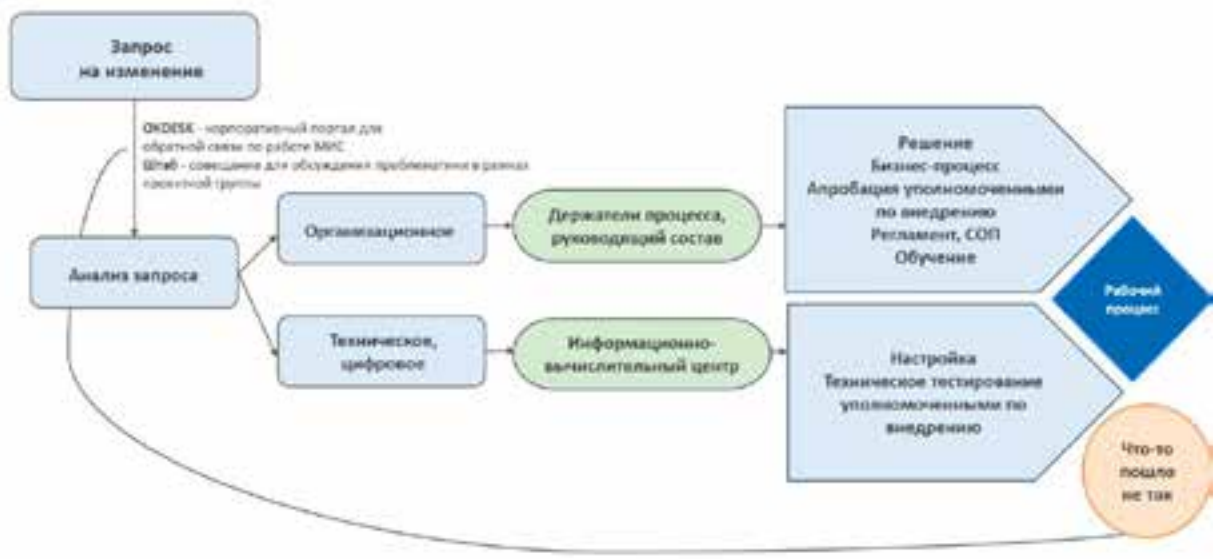


Рис.1. Управление изменениями в РКБ Татарстана

Компетентный сотрудник подаёт запрос на изменение, который затем анализируется для определения организационных и технических аспектов. Технические улучшения осуществляются специализированными инженерными службами, в то время как организационные изменения проходят через утверждение держателей медицинских процессов. После этого изменения проходят апробацию и техническое тестирование, перед тем как быть внедрёнными в рабочий процесс. Если запрос на изменение не удовлетворяет требованиям, процесс повторяется.

В РКБ Татарстана цикл управления реализован с учётом мнения сотрудников. Он включает в себя сбор мнений сотрудников по всем бизнес-единицам посредством представленных источников, таких как анкетирование/опросы, аудиты, портал Okdesk и т.д. Все полученные данные анализируются штабом для принятия дальнейших управленческих решений и представляются на больничном собрании (рис.2)

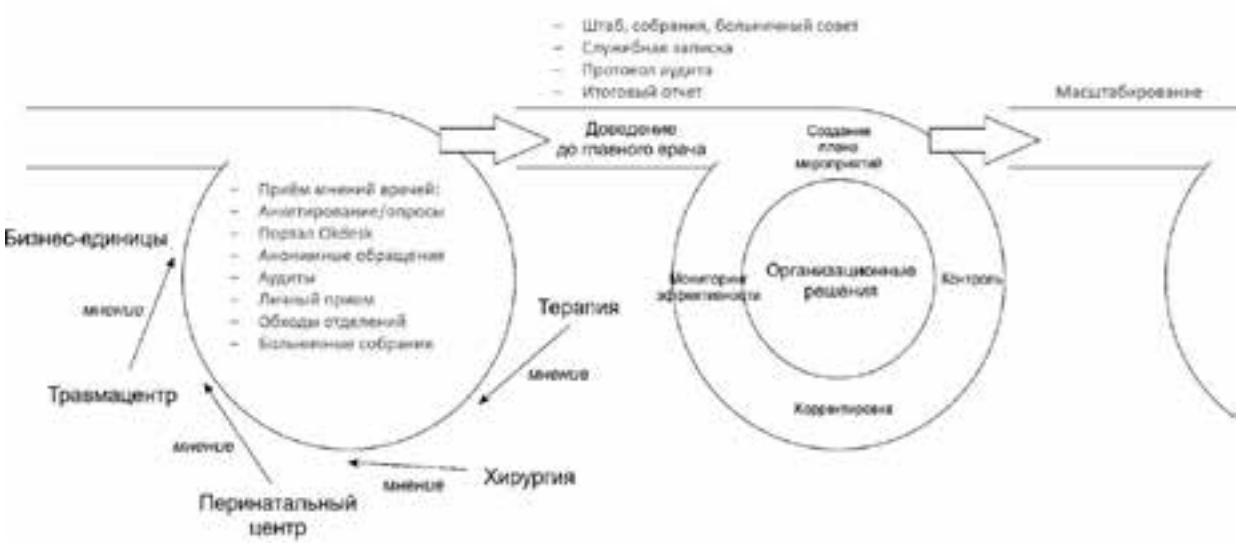


Рис.2. Цикл управления с учётом мнения сотрудников

При внедрении современных стандартов информатизации в клинике существуют определённые риски, которые необходимо учитывать и управлять ими:

1. Сопротивление со стороны сотрудников: многие сотрудники могут быть не готовы к изменениям, связанным с внедрением новых технологий. Это может замедлить процесс внедрения и привести к дополнительным издержкам и повышению стоимости проекта. Помимо этого внедрение новых информационных систем может привести к техническим сбоям, прерываниям в работе и кратковременную потерю доступа к важным данным. Это может усилить сопротивление со стороны персонала.
2. Изменение кадрового состава: некоторые сотрудники могут не приспособиться к работе с новыми технологиями, что может привести к необходимости изменения кадрового состава и обучения новых сотрудников. Недостаточное обучение и поддержка при использовании новых систем могут привести к ошибкам, замедлению процессов и снижению эффективности работы.
3. Потеря данных: при запуске нового цикла сбора данных существует риск потери информации из-за неправильной конвертации или переноса данных из старых систем в новые.

Для уменьшения рисков при внедрении современных стандартов информатизации в клинике необходимо проводить комплексный анализ, разрабатывать стратегии по обеспечению безопасности, обучать персонал и тщательно планировать бюджетные затраты.

Мы попытались проанализировать все новые достижения и возможности, возникшие в результате внедрения цифровизации в РКБ Татарстана, с помощью таблицы "9 факторов эффективности" (рис.3). В первую очередь мы обратили внимание на основные изменения на уровне управления организацией, на различных этапах медицинских процессов, а также на уровне работы медицинского персонала. В результате внедрения мы получили снижение

средней длительности пребывания пациента на койке на 7%, снижение госпитальной летальности на 13 %, повышение возможности госпитализации пациентов на 17 % и т.д.

Рис.3. Эффективность комплексной цифровизации в клинике

Внедрение современных стандартов информатизации в клинике необходимо по нескольким причинам:

1. Улучшение качества медицинской помощи: использование современных информационных технологий позволяет улучшить диагностику, лечение и мониторинг пациентов. Электронные медицинские записи, системы управления лекарственной терапией и другие цифровые инструменты способствуют повышению эффективности работы медицинского персонала и улучшению результатов лечения.

2. Оптимизация процессов управления: Внедрение современных информационных систем позволяет автоматизировать многие административные процессы, такие как учет пациентов, назначение приемов, управление ресурсами и финансами. Это помогает повысить эффективность работы клиники и сократить временные затраты на рутинные операции.

3. Улучшение взаимодействия между медицинским персоналом, пациентами и администрацией: Современные информационные системы позволяют легко обмениваться данными между врачами, медсестрами, администрацией и пациентами. Это способствует более эффективному координации работы, обеспечению доступа к актуальной информации и улучшению коммуникации.

4. Повышение безопасности и конфиденциальности медицинских данных: Современные стандарты информатизации включают в себя меры по защите конфиденциальности медицинских данных, что является крайне важным аспектом в сфере здравоохранения.

Использование шифрования, систем контроля доступа и других технологий помогает предотвратить утечки информации и несанкционированный доступ к медицинским данным.

Таким образом, внедрение информатизации в клинике предоставляет возможность улучшить качество и безопасность медицинского обслуживания, повысить эффективность работы персонала и удовлетворённость пациентов, что делает этот процесс важным для современных медицинских учреждений.

ЛИТЕРАТУРА

1. HIMSS [Сайт]. URL: https://www-himss-org.]
2. Габуния Н. Ю., Паничкин Н.Д. Модель цифровой зрелости HIMSS EMRAM. Менеджмент качества в медицине. 2022. № 4. С. 78-83.

МОТИВАЦИЯ СТУДЕНТОВ ГУМАНИТАРНОГО И ТЕХНИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ К СКРИНИНГОВЫМ ОБСЛЕДОВАНИЯМ НА ПОЛОВЫЕ ИНФЕКЦИИ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

К.Д. Иванилов, Е.А. Бородина, В.И. Тимошилов

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

Актуальность. В результате низкой приверженности населения обследованиям выявляемость половых инфекций составляет порядка 20%. Масштабность профилактики в 2014 – 2019 гг. позволило получить доказательную базу эффективности мероприятий по мотивации молодежи к обследованиям в 2017 г. Трансформация медико-социальных условий в связи с пандемией и военно-политическими событиями требует ее актуализации в настоящее время.

Материалы и методы. Проведены опросы 440 студентов гуманитарного и технического профиля в 2017 г. и 1165 – в 2023 г. В качестве факторного признака предусматривалось выделение одного из мероприятий, которое для респондента стало ведущим в формировании отношения к проблеме ИППП. В качестве результативного признака – намерение к прохождению плановых ежегодных обследований на предмет диагностики ИППП (благоприятный результат) или установка на отказ от такового (отрицательный результат). Математическая оценка связи выполнена по показателю относительного риска RR.

Результаты. Доля осознающих необходимость планового скрининга на половые инфекции имеет тенденцию к статистически малозначимому ($p>0,05$), но все же росту с 62,6±4,6% в 2017 г. до 66,6±2,8% в 2023 г.

Достоверная прямая связь ($RR>1, p\leq0,05$), свидетельствующая о значимой роли в мотивации к обследованиям, и в 2017 г., и в 2023 г. установлена для просветительских публичных выступлений и консультаций врачей, психологических занятий, мероприятий с демонстрацией видеоматериалов. Самостоятельная работа студентов с тематической литературой и волонтерская деятельность в 2017 г. имели прямую связь с мотивирующим эффектом, полностью утратив ее в 2023 г. ($RR_{2023}=1$). Учебный процесс наоборот приобрел значимую роль в мотивации в новейшее время ($RR_{2017}=1$, $RR_{2023}=1,333$ при $p\leq0,05$). Дискуссии на темы полового воспитания как были, так и стались мероприятиями с достоверно отрицательным значением для мотивации к диагностике ($RR_{2017}=0,826$, $RR_{2023}=0,679$ при $p\leq0,05$).

Заключение. Мотивация студентов-немедиков к диагностике ИППП остается на недостаточном уровне, стабильный положительный эффект в плане мотивации к скринингу дают просветительские и консультативные мероприятия врачей и психологов, просмотр тематических видеоматериалов. Стабильно негативная роль доказана для дискуссионных площадок.

ДИСТАНЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ НАСЕЛЕНИЮ УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

И.Ю. Каменщикова

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Ижевск

В 2020-2022 гг. зарегистрирована пандемия новой коронавирусной инфекции. Ежедневно медицинским работникам приходилось решать задачи, связанные с быстрой диагностикой и оказанием помощи большому количеству больных [1].

С 24 февраля 2022г. началась специальная военная операция (СВО). У участников СВО и членов их семей имеется высокий риск развития посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), поэтому возникает необходимость в его ранней диагностике и оказании психолого-психотерапевтической помощи [2].

Численность населения Удмуртской Республики составляет 1 442 251 человек. Плотность населения — 35,69 чел./км². Удельный вес городского населения 65,8%, сельских жителей - 34,2%. В составе Удмуртской Республики 5 городов, 25 сельских районов, 302 сельских поселения, 1 городское поселение, 1 964 сельских населенных пунктов. Учитывая большую территорию УР и удаленность некоторых поселений от городских центров, вопросы оказания дистанционной медицинской помощи сохраняют свою значимость. Дистанционная медицина предоставляет возможность обеспечить доступность качественной медицинской помощи для жителей удаленных районов и лиц, испытывающих трудности в получении необходимой медицинской помощи. Она способствует рациональному использованию ресурсов и повышению уровня медицинского обслуживания населения в целом, что является важным фактором для развития здоровья и благополучия региона.

В целях повышения качества и доступности оказания медицинской помощи населению Удмуртской Республики был организован колл-центр Министерства Здравоохранения Удмуртской Республики.

Цель исследования: изучить особенности организации дистанционной медицинской помощи населению Удмуртской Республики.

Задачи исследования:

1. Провести анализ работы колл-центра МЗ УР в период заболеваемости COVID-19.
2. Провести анализ работы центра оказания психологической помощи участникам СВО и членам их семей.
3. Разработать электронный вариант анкеты для скрининга ПТСР.

4. Разработать маршрутизацию оказания психолого-психиатрической помощи участникам СВО и членам их семей.

Материалы и методы. Проанализированы показатели работы колл-центра МЗ УР с октября 2020 по октябрь 2022 года (25 месяцев). Сплошным методом изучен массив обращений граждан на горячую линию колл-центра МЗ УР. Категории обращений разделены по типу и содержанию, изучены особенности телефонного консультирования, удовлетворенность граждан и медицинских организаций работой колл-центра. Проведен анализ обращений участников СВО и членов их семей. Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием программы StatTech v. 2.4.3 (Россия).

Результаты исследования и их обсуждение. Колл-центр Минздрава Удмуртии был создан по распоряжению МЗ УР №1276 от 23.10.2020г. В период подъема заболеваемости COVID-19 работа проводилась на 2 площадках (Ижевск и Глазов) и в период подъема заболеваемости в феврале-марте 2022 года работала круглосуточная линия (до 60 операторов). Дополнительно колл-центр был представлен на платформах Телеграм и WhatsApp.

При проведении телефонного консультирования необходимо придерживаться основных принципов: конфиденциальность, сохранение границ рабочей беседы, уважение к личности обратившегося [3]. В работе с обратившимися операторы колл-центра используют метод активного слушания, что позволяет достичь большего доверия и получения большей информации от обратившегося. Активное слушание – это способ ведения беседы, когда слушающий активно демонстрирует, что он слышит и понимает, в первую очередь, чувства говорящего [4,5]. Необходимо дать понять собеседнику, что вы его услышали, что он вам рассказал о своем самочувствии и своих переживаниях. Результатом активного слушания является получение большего доверия и большей информации от обратившегося, возможность понять собеседника и его чувства.

На графике 1 представлена связь между заболеваемостью COVID-19 в УР и числом обращений в колл-центр МЗ УР в 2021-2022 г.г. Выявлена прямая сильная достоверная связь между числом заболевших и числом обращений ($r=0,885$; $p<0,05$).

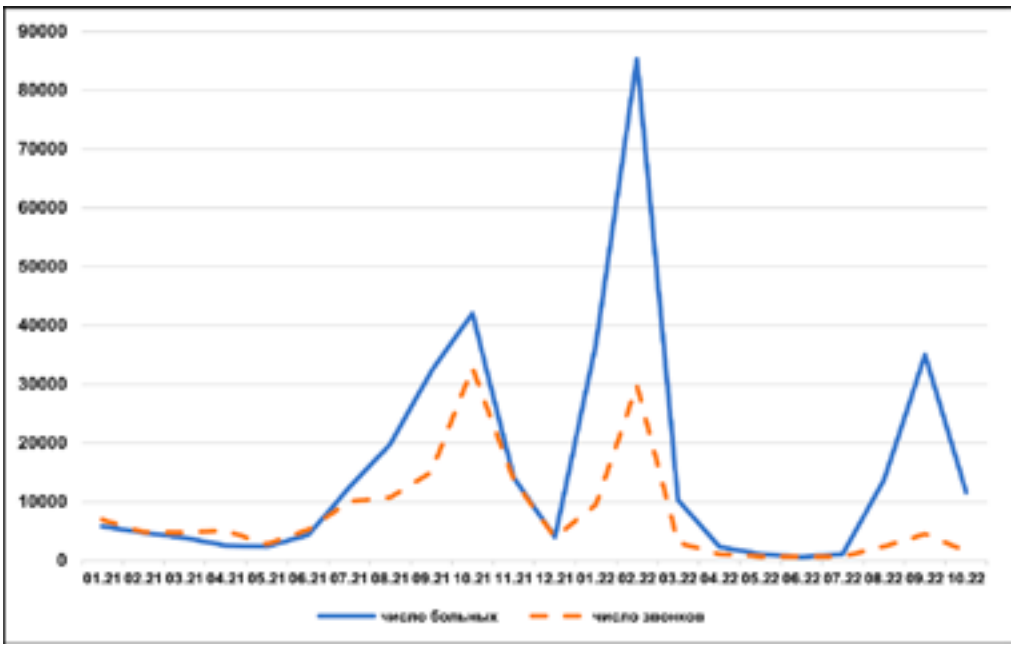


График 1. Связь между заболеваемостью COVID-19 в УР и числом обращений в колл-центр МЗ УР в 2021-2022 г.г.

Колл-центр работает с входящими и исходящими звонками. Работа с входящими звонками включает информирование о результатах ПЦР-теста, дистанционную оценку состояния и маршрутизацию пациента, ответы на вопросы по вакцинации, заполнение заявки на вакцинацию, консультирование по вопросам механизма действия, побочных эффектах лекарственных средств, назначенных лечащим врачом, уточнение правил оформление больничного листа, сертификата вакцинированного/переболевшего. Всего за 25 месяцев работы операторы колл-центра приняли 228 117 обращений граждан по вопросам, связанным с новой коронавирусной инфекцией.

В таблице 1 представлены виды входящих телефонных звонков в зависимости от цели обращения граждан в колл-центр.

Входящие звонки	
Вопросы	% от общего числа
Дистанционная консультация по состоянию здоровья	25,1
Результаты ПЦР-теста	18,5
Карантин и постановления Роспотребнадзора	14,1
Вакцинация (помощь в записи, дата ревакцинации, страх вакцинации)	13,9
Помощь в оформлении вызова врача на дом	11,2
Выписка листа нетрудоспособности в дистанционном режиме	6,7
Разное	10, 5

Таблица 1. Виды входящих телефонных звонков в зависимости от цели обращений в колл-центр МЗ УР

Работа с исходящими звонками строится по проактивному принципу - приглашение на профилактические медицинские осмотры, диспансеризацию, углубленную диспансеризацию, на вакцинацию, аудиомониторинг состояния пациентов, находящихся на амбулаторном лечении с оформлением электронного протокола, взаимодействие с медицинскими организациями по вопросам оперативного оказания помощи. За анализируемый период операторы колл-центра 204 782 раза позвонили гражданам с целью мониторинга состояния здоровья, приглашения на вакцинацию и диспансеризацию.

В таблице 2 представлены основные причины для звонков пациентам сотрудниками колл-центра.

Исходящие звонки (проактивная работа)	
Причина звонка	% от общего числа
Динамическое наблюдение пациентов на амбулаторном лечении (аудиомониторинг)	58,3
Приглашение пациентов на диспансеризацию	18,1
Приглашение пациентов на вакцинацию, заполнение анкет на вакцинацию	11,7
Мониторинг состояния после вакцинации	8,7
Информирование о лекарственном обеспечении	3,2

Таблица 2. Причины телефонных звонков пациентам операторами колл-центра МЗ УР

В период подъема заболеваемости операторами колл-центра с целью помощи поликлиникам осуществлялся аудиомониторинг самочувствия заболевших с оформлением электронного протокола [6]. В ходе опроса сотрудник определял уровень внимания к пациенту со стороны поликлиники. Зеленый уровень – состояние пациента удовлетворительное, динамика положительная. Желтый уровень – состояние без изменений, но требуется звонок врача. Красный – требуется особое наблюдение врача.

На рисунке 1 представлен пример электронного протокола аудиомониторинга амбулаторного пациента с COVID-19, заполняемого операторами колл-центра.

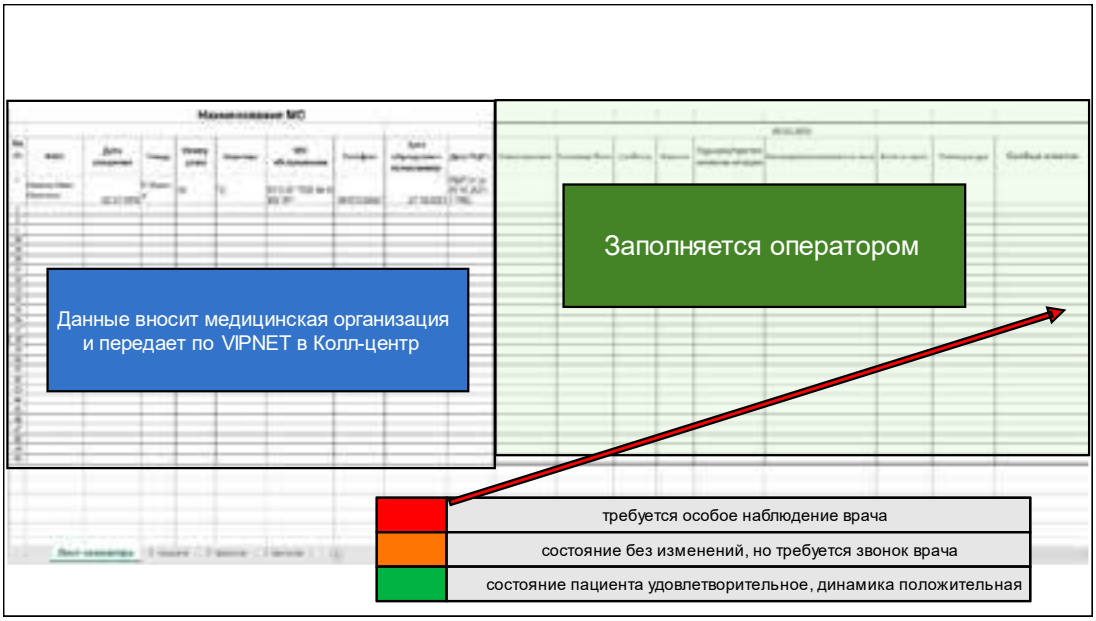


Рисунок 1. Электронный протокол аудиомониторинга амбулаторного пациента с COVID-19

Нами было проведено анкетирование 60 медицинских работников (30 врачей, 30 медсестер), 51 человек (85 %) удовлетворены работой колл-центра. В качестве положительных моментов отмечено уменьшение нагрузки на медицинский персонал при проведении аудиомониторинга; возможность оперативного реагирования на изменение состояния больного; уменьшение количества жалоб на работу поликлиники.

Граждане оценивают работу оператора колл-центра сразу после звонка. Процент удовлетворенных услугами операторов колл-центра составил 86,7 %.

Важным звеном дистанционной медицинской помощи является помощь участникам СВО. У участников СВО и членов их семей имеется высокий риск развития ПТСР, поэтому вопросы диагностики и оказания психолого-психотерапевтической помощи данной категории граждан крайне актуальны в настоящее время. «Центр оказания психологической помощи участникам специальной военной операции и членам их семей» был организован уже в ноябре 2022 года, он работает в круглосуточном режиме (консультации оказываются как по телефону, так и очном формате) на базе БУЗ УР «РКЦПЗ МЗ УР». За время работы Центра на ноябрь 2023 года обратились 34 участника СВО и 118 членов их семей. Стационарную помощь в БУЗ УР «РКЦПЗ МЗ УР» получили 32 участника СВО и 10 родных погибших.

Мы считаем, что истинное количество граждан, которым необходима психолого-психотерапевтическая помощь, значительно больше. Поэтому участники СВО и члены их семей нуждаются в проведении скринингового обследования для диагностики ПТСР.

Целью проведения скринингового обследования является выявление признаков психических расстройств, в том числе связанных со стрессом; определение риска суицидального поведения; своевременная маршрутизация пациентов для оказания психолого-

психотерапевтической помощи; организация учета случаев обращений участников СВО и членов их семей, подготовка отчетных материалов.

Скрининговое обследование проводится участникам СВО, участникам добровольческих формирований и частных военных компаний; участникам СВО, уволенным с военной и приравненной к ней службе; членам семей участников СВО; гражданам, пострадавшим в ходе СВО. Взрослым скрининговое обследование проводится в виде самоопроса. Для несовершеннолетних – структурированное интервью с родителями.

Скрининг проводится в Фонде «Защитники отечества», медицинских организациях, организациях, подведомственных Минсоцполитики УР, образовательных учреждениях. Его могут проводить медицинские и немедицинские работники медицинских организаций, школьные психологи, социальные работники. Кроме того, самоопрос можно пройти на сайте Перезагрузистресс.рф.

Нами использовался опросник на скрининг ПТСР (Trauma Screening Questionnaire, 2002), состоящий из 10 вопросов. Учитывался даже один выявленный положительный признак (ответ «Да»). По итогам скринингового обследования пациенту предоставляется информация о его результатах и осуществляется маршрутизация для проведения углубленного обследования. Заполняется направление, дальнейшая маршрутизация осуществляется согласно схеме, представленной на рисунке 2.

Рисунок 2. Схема маршрутизации граждан для диагностики ПТСР

Информация о данном лице передается в «Центр оказания психологической помощи участникам специальной военной операции и членам их семей» на базе БУЗ УР «РКЦПЗ МЗ УР». Таким образом, формируется реестр лиц, нуждающихся в помощи.

Нами разработан электронный вариант опросника в формате электронной формы по адресу https://forms.yandex.ru/u/64fee9f32530c2acc118c924. Кнопка "Отправить анкету" доступна только в том случае, если есть хотя бы один ответ "Да" на любой из 10 вопросов. В этом случае результат выводится на QR-код с указанием адресов и контактных телефонов БУЗ УР «РКЦПЗ МЗ УР» по которым гражданин может обратиться за помощью.

Таким образом, скрининговое обследование участников СВО и членов их семей позволило увеличить группу обследованных граждан и выявлять у них расстройства, связанные со стрессом в ранние сроки.

Выводы:

1. Колл-центр МЗ УР является связующим звеном и самостоятельной структурной единицей при организации помощи пациентам в период подъема заболеваемости COVID-19. Медицинские организации и граждане удовлетворены работой колл-центра МЗ УР по сопровождению пациентов с COVID-19.
2. Разработан электронный вариант анкеты для скрининга ПТСР и размещен на сайте перезагрузистресс.рф.
3. Скрининговое обследование участников СВО и членов их семей позволит увеличить группу обследованных граждан и выявлять у них расстройства, связанные со стрессом в ранние сроки.
4. Разработана маршрутизация оказания психолого-психотерапевтической помощи участникам СВО и членам их семей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горенков Д.В., Хантимирова Л.М., Шевцов В.А., Рукавишников А.В., Меркулов В.А., Олефир Ю.В. Вспышка нового инфекционного заболевания COVID-19: β-коронавирусы как угроза глобальному здравоохранению // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. − 2020. −Т. 20. −№1. − С. − 6–20.

2. Организация скринингового обследования участников специальной военной операции и членов их семей в целях раннего выявления у них психических расстройств, в том числе связанных со стрессом (методические рекомендации). – URL: https://bekhterev.ru/wp-content/uploads/2023/12/metreki-utverzhdennye-skan_compressed.pdf (дата обращения: 26.01.2024)

3.Чиркова Н.В. Особенности работы психолога в формате телефонного консультирования / Н.В. Чиркова // PEM: Psychology. Educology. Medicine. − 2014. − № 3. − ISSN 2312-9352.

4. Жукова Г.А. Использование техник активного слушания на лекционных занятиях как средство повышения эффективности усвоения учебного материала // Ученые записки Санкт-Петербургского университета технологий управления и экономики. − 2009. − № 4(26). − С. 87−94.

5. Скавинская Е.Н. Особенности кризисного консультирования в рамках экстренной телефонной помощи // Сибирский психологический журнал. − 2006. − №23. − С.17−21.

6. Письмо Министерства здравоохранения РФ от 14 января 2022 г. № 30-4/И/1-336 «О направлении рекомендаций для сотрудников колл-центров и привлекаемых к их работе лиц алгоритмов сбора жалоб, анамнеза, а также алгоритмов дистанционной работы с пациентами с установленным диагнозом новой коронавирусной инфекции (COVID-19), находящимися на амбулаторном лечении. – URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403292961/ (дата обращения: 26.01.2024)

Контактная информация

Каменщикова Ирина Юрьевна – студент ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281, e-mail: irinaemli01@gmail.com

РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОЙ ВЕРСИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭСТЕТИКИ ЛИЦА

Д.Б. Каплан, Л.С. Персин

Данная работа относится к направлению современных методов диагностики зубочелюстных аномалий с использованием цифровых технологий. В настоящее время более 70% детей и подростков имеют необходимость в проведении ортодонтического лечения с целью исправления зубочелюстных аномалий (Адмакин О.И., 2004) [1]. С развитием специальности ортодонтия, врачи-ортодонты ранее фокусировались на коррекции зубочелюстных аномалий в виде аномалий зубов, зубных рядов, челюстей и окклюзии, поскольку диагностика проводилась на основе вида аномалии окклюзии. В настоящее время современные подходы к диагностике и лечению требуют уделения внимания стоматологической триаде, включающей в себя лечение аномалий окклюзии, создание лицевой эстетики и нормализацию равновесия мышц челюстно-лицевой области, височно-нижнечелюстных суставов и пародонта зубов. Исходя из этого, становится понятно, что врачу-ортодонту необходимо обладать обширным количеством информации для постановки окончательного диагноза на основе надежных результатов исследований.

Обследование зубочелюстной системы с использованием оценки лицевой эстетики, антропометрической диагностики, ТРГ диагностики, и функционального обследования играет важную роль в постановке правильного диагноза. Заключение врачей различных специальностей также является ключевым для оценки общего состояния пациента. Применение цифровых технологий для диагностики и лечения зубочелюстных аномалий упрощает процесс и повышает точность диагностики.

Первоначальные попытки создания лучевых фотостатов для центровки головы, были предприняты З.И. Вагаповым (2011) и А.Л. Егиазаряном (2013), где в их работах описана значимость данной полезной модели [2,3]. Стандартизация методов фотометрии и создание фотостатов для центровки головы во время съемки анфас и в профиль представляют собой критически важные компоненты клинического протокола диагностики аномалий зубочелюстной системы. Данный метод диагностики имеет потенциал значительно повысить точность и надежность процесса оценки результатов фотометрии, что в свою очередь улучшит качество диагностики и последующего лечения заболеваний зубочелюстной системы. Поэтому для изготовления фотографий было

использовано данное устройство, позволяющее центрировать положение головы в 3-х взаимно перпендикулярных направлениях. Фотостат представляет собой устройство, которое состоит из головного светодиодного фонаря (1), лазерной указки (2), двухосевого уровня OPTITECH для контроля наклонов головы вверх/вниз и влево/вправо (3), мягкого резинового держателя, который удерживает фотостат на голове. Длина ремня регулируется в зависимости от размера головы пациента (4) (рис. 1).

Рис. 1. Составные элементы фотостата

Обследуемому следует смотреть прямо, его голова должна быть в естественном положении, определенному с помощью направления зрачков и отвеса, расположенном на шторе, который с лучом данного устройства образует угол, равный 90 градусов. Фотокамера устанавливается на штатив, и пациент на стандартном расстоянии от фотоаппарата.

В отечественной и зарубежной литературе показана значимая роль в проведении анализ с помощью цифровых технологий для диагностики и лечения зубочелюстных аномалий, таких как расшифровка и анализ телерентгенограмм, антропометрических данных и функциональных исследований, а также создание компьютеризированных медицинских записей и оценок лицевой эстетики. Так был разработан метод оценки гармоничности развития зубочелюстной системы (Hasund A., Segner D., 1991) [8], гармоничности окклюзии зубных рядов (Рыбакова М.Г., 2012) [4]. На кафедре ортодонтии ФГБОУ ВО МГМСУ им А.И. Евдокимова была разработана компьютеризированная история болезни ортодонтического пациента (Порохин А.Ю., Персин Л.С., 2011) [5] и оценки эстетики лица (Коваленко А.В., Слабковская А.Б., 2011) [6]. Но данные методы имеют свои ограничения в полноценной оценке статуса ортодонтических пациентов и прогнозировании лечения, поэтому возникла необходимость в разработке не только способа, но и компьютерной версии оценки эстетики лица, который позволит

визуализировать и проанализировать происходящие изменения в трехмерном формате, что поможет в постановке более точного клинического диагноза [7].

Основная особенность компьютерной версии «ЛЭДАН-1» (рис.2) заключается в возможности проводить оценку гармоничности лицевых признаков по индексовым показателям в трех взаимно перпендикулярных направлениях, проводить оценку соразмерности параметров зубочелюстной системы для постановки окончательного диагноза.

Рис. 2. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2021682052.

Для этого Каплан Д.Б. лично провел обследование 50 пациентов с мезиальной окклюзией и 50 добровольцев с нормальной окклюзией, используя стандартный протокол, входящий в «Историю болезни ортодонтического больного», разработанный на кафедре ортодонтии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины», принимал участие в фотографировании лица, разработке фотостата лица, сканировании и анализе 100 пар трехмерных моделей зубных рядов у пациентов с мезиальной окклюзией и 100 пар трехмерных моделей у добровольцев с нормальной окклюзией в возрасте 17-25 лет. Всего провел порядка 1900 измерений 19 антропометрических параметров добровольцев с нормальной окклюзией и пациентов с мезиальной окклюзией (рис. 3). Провел сравнительный анализ и сопоставил 50 боковых телерентгенограмм головы у добровольцев с нормальной окклюзией и 50 боковых телерентгенограмм у пациентов с мезиальной окклюзией, всего было проведено порядка 4600 измерений. Автор является соавтором компьютерной версии оценки лицевой эстетики.

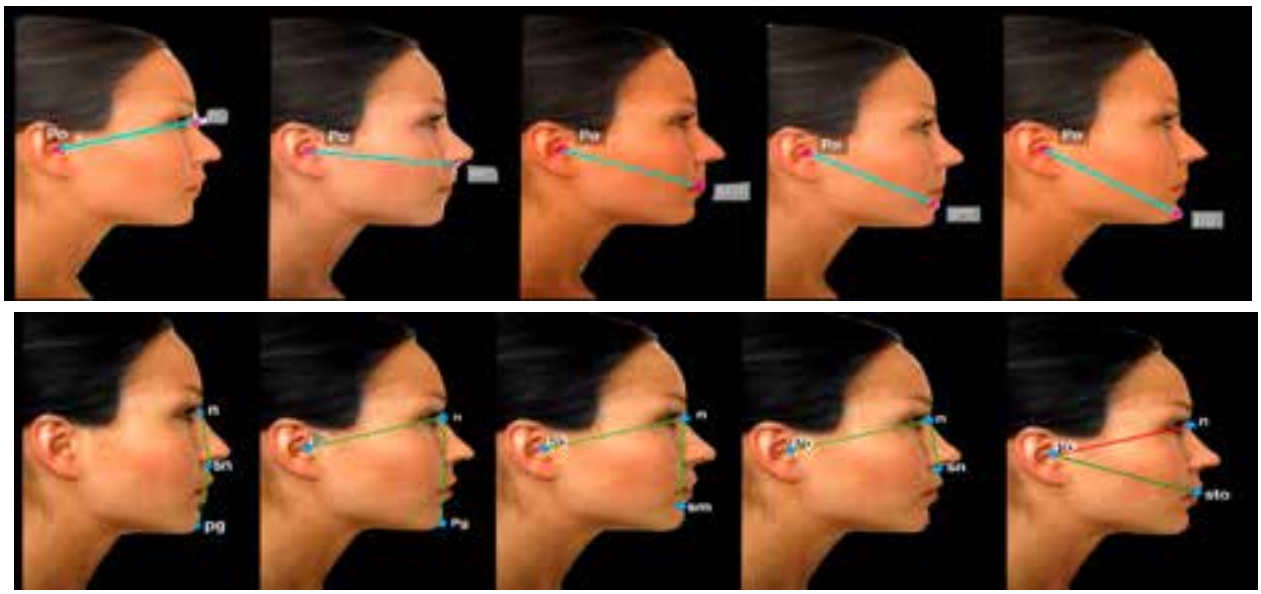


Рис. 3. Определение антропометрических параметров, позволяющих оценивать лицевую эстетику

Для оценки эстетики лица использовали линейные параметры: Po-n, Po-sn, Po-sm, Po-pg, n-pg, n-sn, n-sm, Po-sto, угловые параметры: <n-Po-sn, <n-Po-sm, <n-Po-pg, <n-sn-pg, <Po-n-pg, <Po-n-sm, < Po-n-sn, <n–sn/sn-gn, индексовые параметры: n-sn/sn-gn, sn-sto/sto-gn, st-st/n-sn, n-sn/n-pg, Po-n/Po-sn, Po-n/Po-sto, Po-n/Po-sm, Po-n/Po-pg, n-sn/sn-gn, sn– sto/sto-gn, st-st/n-sn. Именно данные параметры и были заложены в основе алгоритма, разработанной нами компьютерной версии оценки эстетики лица. Данная компьютерная версия предназначена для осуществления автоматизированного морфометрического анализа и основными пользователями будут являться, по-нашему мнению, практикующие врачи-стоматологи, в частности врачи-ортодонты, челюстно-лицевые хирурги, ортопеды, а также студенты, ординаторы, аспиранты стоматологических вузов. Данный модуль является неотъемлемой частью программного обеспечения для диагностического оборудования, а именно программы, к которой могут быть подключены существующие на территории медицинского учреждения радиовизиографы, ортопантомографы и интраоральные камеры, и программы будут выступать одной базой данных для всего мультимедийного контента в рамках данного пациента. Помимо этого, в данную программу также будут загружаться фотометрические объекты, созданные в специальном модуле. Принцип работы в данной программе основан на использовании виртуального помощника, который помогает расставить антропометрические точки на фотографиях лица в профиль и анфас (рис.4).

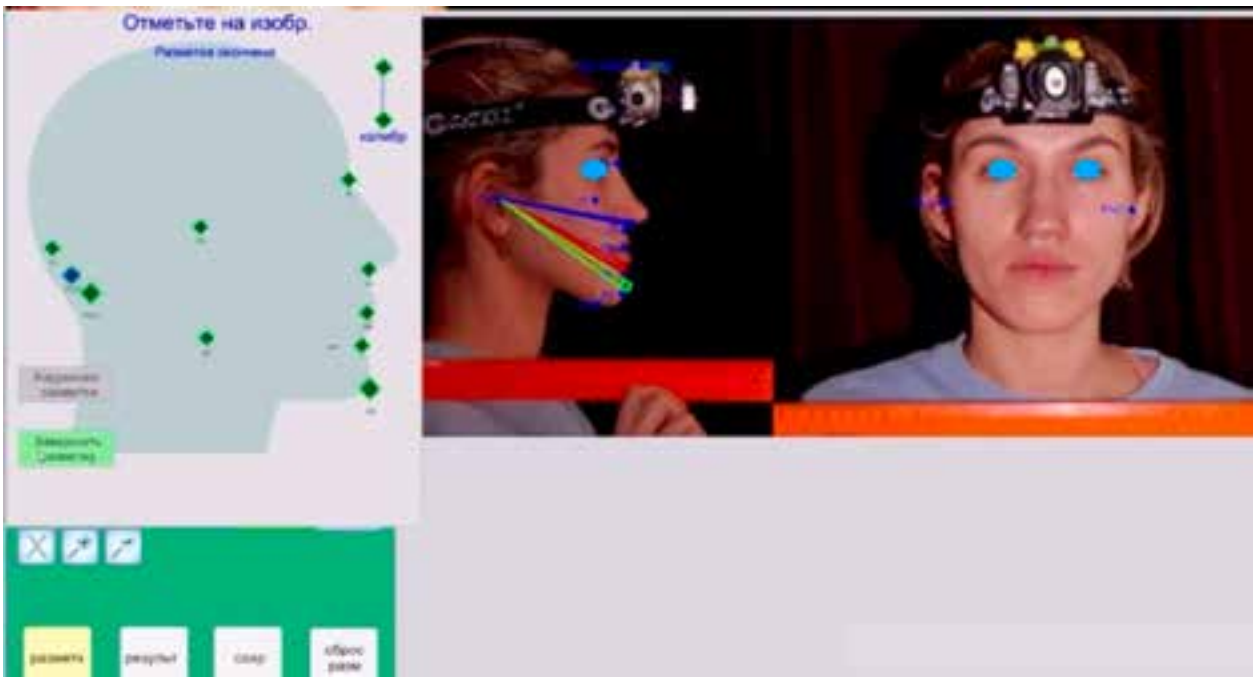


Рис. 4. Визуализация компьютерной версии «ЛЭДАН-1»

После чего проводится автоматизированный расчет, и для вывода результатов имеется определенный пункт меню, и результаты в дальнейшем могут быть скопированы и использованы в дальнейшей работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адмакин, О.И., Мамедов А.А. Стоматологическая заболеваемость детского и взрослого населения в различных климатогеографических регионах России. // Профилактика стоматологических заболеваний. – 2004. - № 9. – С. 14-17.

2. Вагапов, З.И. Применение компьютерных технологий в морфометрической оценке зубочелюстной системы пациентов с физиологической окклюзией зубных рядов : автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Закир Иркинович Вагапов. – М., 2011. – 20 с.

3. Егиазарян, А.Л. Оценка морфометрического состояния зубочелюстной системы у лиц с физиологической и дистальной окклюзией зубных рядов с применением информационно–компьютерных технологий: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14. / Анна Левоновна Егиазарян. – М., 2013. – 25 с.

4. Коваленко, А.В. Психологический статус пациентов с гнатическими формами аномалий окклюзии до и после ортогнатического лечения / А.В. Коваленко, А.Б. Слабковская, Н.С. Дробышева, А.Ю. Дробышев, Л.С. Персин // Российская стоматология. - 2011. - Т.4. - №5. - С.10-14.

5. Персин, Л.С. Устройство для экспресс скелетных нарушений при сагиттальных аномалиях окклюзии / Л.С. Персин, А.Ю. Порохин, А.С. Аристова, Д.Ш. Лугуева // Ортодонтия – 2011. – №2. – С.21–23.

6. Рыбакова, М.Г. Оценка смыкания зубных рядов и гармоничности развития зубочелюстной системы у лиц 17 – 25 лет с физиологической и дистальной окклюзией зубных рядов: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14. / Мария Графовна Рыбакова. – М., 2012. – 144 с.

7. Каплан Д.Б. Разработка цифровых технологий и их применение у лиц с нормальной окклюзией и мезиальной окклюзией зубных рядов: дисс. … канд. мед. наук: 3.1.7. / Даниил Борисович Каплан – М.2022. – 6-7 с.

8. Hasund, A. Individualisierte Kephalometric HansaDont Verlag und Vetrieb / A. Hasund, D. Segner // Hamburg. – 1991.

ОСОБЕННОСТИ ОКАЗАНИЯ НЕОТЛОЖНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ЛИЦАМ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

А.Г. Кузнецова[1]

[1]Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, г. Москва

FEATURES OF PROVIDING EMERGENCY MEDICAL CARE TO ELDERLY AND SENILE PERSONS

A. G. Kuznetsova[1]

[1]Academy of postgraduate education of the Federal state budgetary institution “Federal scientific and clinical center of specialized types of medical care and medical technologies of the Federal medical and biological Agency”, Moscow

Демографические прогнозы показывают, что число пожилых людей в мире увеличится с 841 миллиона в 2013 году до 2 миллиардов в 2050 году. Феномен старения приносит как проблемы, так и возможности. Для общественного здравоохранения это вызывает глобальную озабоченность, поскольку в «Глобальном анализе заболеваний» указывается, что 23% бремени болезней связано с последствиями старения. Эта ситуация способствует увеличению спроса на медицинские услуги и их ресурсы, что требует реагирования со стороны политики здравоохранения и разработки и внедрения новых форм медицинской помощи с моделями ухода, которые учитывают характеристики пожилых людей и которые оптимизированы и организованы комплексно на протяжении всего периода лечения [1].

Люди старше 65 лет часто более уязвимы к острым травмам, имеют больший риск падения, более высокий риск полипрагмазии и неблагоприятного взаимодействия лекарственных средств, свойственна полиморбидность и часто острые состояния проявляются неспецифическими симптомами. Важно помнить, что отделение неотложной помощи часто является первым контактным лицом для пожилых людей. Для некоторых отделение неотложной помощи может быть единственным источником получения медицинской помощи. В настоящее время каждый шестой россиянин, т.е. 16,5% жителей страны, находится в возрасте 65 лет и более. Каждый четвёртый житель России (35,8 млн. человек на 1 января 2023 г.) – в пенсионном возрасте [2]. Рост числа пожилых пациентов и состояния, связанные с пожилым и старческим возрастом, будут оказывать влияние на структуру оказываемой неотложной помощи. Во многих странах, в том числе и в России, отсутствует четкий алгоритм принятия решений при неотложных состояниях у пациентов пожилого и старческого возраста, что приводит к более высоким рискам смерти на

дому, повторной госпитализации пациентов данной возрастной категории. При этом не все пациенты нуждаются в медицинской помощи, часто данным пациентам требуется помощь социальной службы ввиду одиночества и уязвимости.

На основании проведенных исследований выявлены состояния, при которых быстрая диагностика и раннее вмешательство при остром заболевании или остром декомпенсированном хроническом заболевании улучшают результаты лечения пациентов (ECSC). Так экспертная комиссия в США оценила 51 группу состояний как требующие неотложной помощи. Наиболее частые обращения в отделение неотложной помощи были по поводу системной воспалительной реакции, хронической обструктивной болезни легких, пневмонии, астмы и сердечной недостаточности, большинство посещений неотложной помощи (86,0%) не были связаны с ECSC [3].

В Швеции большинство пациентов, которых доставляют в больницы службы неотложной медицинской помощи, являются относительно пожилыми людьми, и большинство из них страдают сопутствующими заболеваниями. Около половины этих пациентов поступают в больничную палату и остаются в больнице. Однако другая половина посещает только отделение неотложной помощи. Нагрузка на отделение неотложной помощи огромна, и многим пожилым пациентам приходится оставаться в отделении неотложной помощи в течение многих часов. Так при обсервационном анализе 5326 пациентов, доставленных в больницу службами скорой помощи, 52% были выписаны непосредственно из отделения неотложной помощи. Среди этих пациентов 37% были оценены как не нуждающиеся в неотложной медицинской помощи. Тремя наиболее распространенными причинами обращения в отделение неотложной помощи в этой подгруппе были боль в животе (15%), боль в спине (8%) и неуточненное заболевание (7%). Из этих пациентов 77% осмотрены с врачом отделения неотложной помощи, 6% осмотрены только медсестрой и 17% покинули отделение неотложной помощи без какого-либо осмотра. 26% пациентов были даны рекомендации по последующему наблюдению в первичном звене [4].

На о. Тайвань, было показано, что обилие медицинских учреждений и охват услугами заставляют людей обращаться за медицинской помощью в любых случаях, даже не требующих медицинского вмешательства, что приводит к увеличению времени лечения и увеличению затрат. В том же исследовании также указано, что возраст и количество хронических заболеваний являются основными факторами, влияющими на госпитализацию [5].

В ретроспективном когортном исследовании в Нидерландах проводился анализ о различиях в оказании неотложной помощи у пожилых пациентов (65+лет) и молодых. В ходе исследования выявлено, что обращение за неотложной помощью чаще происходило у пожилых пациентов, чем у более молодых пациентов (26% против 16%; $p < 0,0001$). Пациентам пожилого возраста чаще ставили диагноз ОНМК, пневмония или обострение ХОБЛ, тогда как у более молодых па-

циентов чаще встречались простые ушибы или желудочно-кишечные заболевания. Время прохождения обследования было больше у пожилых пациентов, чем у молодых (средняя разница: 33 минуты; ДИ 95%). Пожилые пациенты чаще госпитализировались (71% против 39%, $p < 0,0001$), и их уровень смертности был выше (2,0% против 0,5%; $p < 0,0001$).[6]

Исходя ил полученных данных, в большинстве стран разрабатываются новые системы принятия решений и более качественные модели медицинской помощи для экономической и клинической эффективности проводимых мероприятий в отделении неотложной помощи [7, 8, 9].

В Российской Федерации по данной теме проведено исследование об особенностях оказания медицинской помощи пожилым людям с острой травмой на догоспитальном этапе Кривцуновым А.Н.[10], но работ по тактике ведения пожилых пациентов с неотложной терапевтической патологией в амбулаторном звене в настоящее время не существует, что делает данную тему актуальной и требующей изучения. В связи с ограниченным временем приема пациентов в поликлинике для врача первичного звена особую важность имеет возможность применения упрощенных алгоритмов или экспресс-опросников для быстрого принятия решения по дальнейшей тактике ведения пациентов, особенно из группы высокого риска, к которым относятся пациенты пожилого и старческого возраста.

Фактически, данные свидетельствуют о том, что большинство посещений неотложной помощи необходимы с медицинской точки зрения, и отделения неотложной помощи служат важнейшим источником помощи для пациентов из группы высокого риска, особенно для тех, у кого есть сопутствующие психические расстройства, расстройства, связанные с употреблением психоактивных веществ, и плохие социальные детерминанты здоровья. Следует сделать упор на интеграцию медицинской помощи в разных учреждениях, улучшение доступности первичной медико-санитарной помощи, приверженности к здоровому образу жизни, обеспечение доступности лекарств, предоставление четкой и последовательной информации, необходимой для поддержания здоровья пациентов и оптимизации использования медицинской помощи.

Таким образом гипотеза исследования заключается в предположении, что усовершенствование тактики ведения пациентов пожилого и старческого возраста при обращении в отделение неотложной помощи поликлиники позволит оптимизировать ресурсы здравоохранения, социальных служб, микроокружения пациента, что в конечном итоге улучшит качество гериатрической помощи, что будет заключаться в лучшем соматическом и гериатрическом статусе, снижении обращаемости на скорую помощь, госпитализированной заболеваемости, что в конечном итоге повысит качество жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Giovana Aparecida de Souza Scolari , Leidyani Karina Rissardo , Vanessa Denardi Antoniassi Baldissera , Lígia Carreira Emergency care units and dimensions of accessibility to health care for the elderly // Rev Bras Enferm . 2018:71 Suppl 2:811-817. doi: 10.1590/0034-7167-2017-0440.
2. https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13284
3. Anita A. Vashi, MD, MPH, MHS; Tracy Urech, MPH; Brendan Carr, MD, MS; et al. Identification of Emergency Care–Sensitive Conditions and Characteristics of Emergency Department Utilization. JAMA Netw Open. 2019;2(8):e198642.
4. Carl Magnusson, Helena Ryge, Filip Scott, Johan Herlitz & Christer Axelsson. Limited need for hospital resources among patients brought to hospital by the emergency medical services. BMC Emergency Medicine volume 21, Article number: 156 (2021).
5. Yang YT, Iqbal U, Ko HL, Wu CR, Chiu HT, Lin YC, et al. The relationship between accessibility of healthcare facilities and medical care utilization among the middle-aged and elderly population in Taiwan. Int J Qual Health Care [Internet]. 2015[cited 2016 May 22];27(3):222-31. Available from: http://intqhc.oxfordjournals.org/content/27/3/222.full.pdf
6. Sivera A A Berben , Anneke Bloemhoff, Karin C F Habets, Janine Liefers, Chantal J M Hensens, Pierre M van Grunsven, Yvonne Schoon, H A M van den Berg Care contacts of elderly patients in the emergency care pathway: a retrospective cohort study // Ned Tijdschr Geneeskd . 2019 Jul 29:163:D3523.
7. Maura Kennedy, MD, MPH; Kei Ouchi, MD, MPH; Kevin Biese, MD, MAT. Geriatric Emergency Care Reduces Health Care Costs—What Are the Next Steps? JAMA Netw Open. 2021;4(3):e210147. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.0147.
8. Samuel A. Ockner, MD Geriatric Emergency Medicine: Providing Older Missourians with the Care They Need and Deserve. Mo Med. 2022 Sep-Oct; 119(5): 444–451.
9. Zeynep Or, Anne Penneau A Multilevel Analysis of the determinants of emergency care visits by the elderly in France. Health Policy Volume 122, Issue 8, August 2018, Pages 908-914
10. Кривцунов Александр Николаевич Особенности оказания медицинской помощи пожилым и старым людям с острой травмой на догоспитальном этапе: автореф. дис. канд. 3.1.31
11. Tracey England, Sally Brailsford, Dave Evenden, Andrew Street, Laia Maynou, Suzanne M Mason, Louise Preston, Christopher Burton, James Van Oppen, Simon Conroy. Examining the effect of interventions in emergency care for older people using a system dynamics decision support tool. Age and Ageing, Volume 52, Issue 1, January 2023, afac336

ТЕХНОЛОГИИ МОБИЛЬНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ В КОНТРОЛЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ ОКАЗАНИИ ПЕРВИЧНОЙ МЕДИКО-САНИТАРНОЙ ПОМОЩИ

М.С. Куликова, А.М. Калинина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г. Москва

Резюме

Снижение повышенной массы тела (МТ) - реальная мера профилактики хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ), обеспечивающая значительное сокращение расходов на здравоохранение. Наиболее перспективными в отношении контроля и коррекции повышенной МТ являются поведенческие вмешательства, направленные на модификацию питания и физической активности (ФА), при использовании дистанционного контроля на основе технологий мобильного здравоохранения (m-health). На сегодняшний день недостаточно доказательных рандомизированных исследований, изучающих данную проблему в условиях практики первичного звена отечественного здравоохранения.

Цель работы. Оценить результативность технологии мобильного здравоохранения при осуществлении контроля и коррекции поведенческих факторов риска хронических неинфекционных заболеваний у пациентов различных медицинских организаций первичной медико-санитарной помощи.

Материалы и методы. В первом российском многоцентровом рандомизированном проспективном профилактическом исследовании «Дистанционный контроль массы тела» участвовали 546 пациентов: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 60 лет с индексом массы тела (ИМТ) от 27 до 37 кг/м^2, получавшие медицинскую помощь по профилактике ХНИЗ в медицинских организациях первичной медико-санитарной помощи (ПМСП): центрах здоровья (ЦЗ), отделении медицинской профилактики поликлиники (ОМП), фельдшерско-акушерских пунктах (ФАПах). Вмешательство включало очные визиты с проведением индивидуального углубленного профилактического консультирования по поведенческим факторам риска ХНИЗ и последующий дистанционный контроль и поддержку процесса снижения повышенной МТ с помощью специально разработанного мобильного приложения «Доктор ПМ» в течение 6 месяцев.

Результаты. Во всех рассматриваемых типах медицинских организаций (МО) к заключительному визиту отмечалось снижение контролируемых антропометрических показателей (МТ, ИМТ и окружности талии- ОТ) по сравнению с исходными данными ($p<0,001$),

статистически значимых различий между типами МО выявлено не было (p>0,05). В то же время достижение показателей целевого снижения МТ (на 5% от исходного за 6 месяцев) оказалось значимо выше среди пациентов ЦЗ (46,7%) и ФАПов (45,1%) по сравнению с участниками, наблюдающимися в ОМП (23,9%), p<0,05. При оценке динамики привычек питания было отмечено снижение частоты потребления продуктов питания с повышенной калорийностью (с избыточным содержанием жиров и простых углеводов) (p<0,05). Однако потребление клетчатки (овощей/фруктов/злаков) имело разнонаправленную тенденцию в рассматриваемых типах МО: увеличение среди пациентов ЦЗ и ОМП, снижение среди участников исследования на ФАПах. Все участники продемонстрировали повышение уровня ФА, оцениваемой по количеству ежедневных шагов. При этом среди пациентов ЦЗ уровень ФА был выше на протяжении первых 5 месяцев проводимого вмешательства (p<0,05).

Заключение. Комплексное профилактическое вмешательство с использованием технологии мобильного здравоохранения в динамическом контроле поведенческих факторов риска у пациентов с повышенной МТ обеспечивает значимое снижение основных контролируемых антропометрических показателей в МО ПМСП. Модификация пищевых привычек и поддержание долженствующего уровня ФА являются важными компонентами эффективного профилактического вмешательства в амбулаторной практике.

Ключевые слова: избыточная масса тела, ожирение, факторы риска, профилактика, дистанционное наблюдение, профилактическое консультирование, мобильное приложение, мобильное здравоохранение

Список сокращений: m -health – мобильное здравоохранение; ИМТ – индекс массы тела; МО – медицинская организация; МП -медицинский персонал; МТ - масса тела; ОМП – отделение медицинской профилактики поликлиники; ОТ - окружность талии; ПМСП - первичная медико-санитарная помощь; ФА – физическая активность; ФАП – фельдшерско-акушерский пункт; ФР - фактор риска; ХНИЗ -хронические неинфекционные заболевания; ЦЗ -центр здоровья.

Введение

В системе здравоохранения ключевым направлением и неотъемлемой частью мер по укреплению общественного здоровья является профилактическая деятельность, призванная осуществлять контроль за факторами (детерминантами), определяющими здоровье [1].

Среди множества проблем укрепления общественного здоровья, как показывают статистические данные и результаты эпидемиологических исследований, выделяется проблема повышенной МТ в качестве основного предиктора развития таких предотвратимых заболеваний,

как сахарный диабет 2 типа, инсульт, сердечно-сосудистые заболевания, некоторые онкологические заболевания, следствием которых являются инвалидизация и смертность [2-4].

Доказано, что наиболее эффективными программами для снижения повышенной МТ являются те, которые направлены как на коррекцию пищевых привычек, так и на увеличение уровня ФА, однако, полученные таким образом результаты остаются субоптимальными из-за недостаточной приверженности пациентов и отсутствия системного организационного подхода при осуществлении динамического контроля процесса снижения МТ со стороны медицинского персонала (МП) [5-6].

В преодолении существующих барьеров перспективными могут стать новые организационные формы цифрового контроля показателей здоровья и дистанционной поддержки пациентов в процессе модификации образа жизни, в частности, технологии мобильного здравоохранения (m-health), имеющие достаточную доказательную базу [7,8].

Показано, что комплексные профилактические программы, сочетающие проведение очного индивидуального углубленного профилактического консультирования с последующим использованием технологии мобильного здравоохранения для динамического наблюдения и дистанционного контроля, дают наилучшие результаты [9,10].

Однако, на сегодняшний день недостаточно доказательных исследований, изучающих проблему применения технологий мобильного здравоохранения для контроля и коррекции поведенческих факторов риска ХНИЗ в медицинских организациях первичного звена отечественного здравоохранения.

Цель исследования. Оценить результативность технологии мобильного здравоохранения при осуществлении контроля и коррекции поведенческих факторов риска хронических неинфекционных заболеваний у пациентов различных медицинских организаций первичной медико-санитарной помощи**.**

Материал и методы

Многоцентровой проект «Дистанционный контроль массы тела» проводился в формате рандомизированного исследования (внутри каждого центра-участника) в 5 субъектах Российской Федерации на базе МО ПМСП в течение 6 месяцев (с апреля по ноябрь 2021 года). В условиях ЦЗ и в режиме их работы исследование проведено в трех центрах: Ульяновском, Оренбургском, Ямало-Ненецком. В условиях ОМП исследование проводилось в Тюменском центре. В условиях ФАПа исследование проводилось в Свердловской области (таблица 1).

Таблица 1. Характеристики особенностей медицинских организаций

Отличительные особенности/ медицинские организации	**ЦЗ**	**ОМП**	**ФАП**
Прикрепленное население	нет	имеется	имеется
Медицинские работники	врач	врач	средний МП
Место проживания	город	город	село

Пациенты были отобраны в исследование в соответствии с критериями включения и исключения из амбулаторных пациентов медицинских организаций в регионах-участниках.

Критерии включения: пациенты мужского и женского пола в возрасте от 18 до 60 лет с ИМТ 27 - 37 кг/м2 при наличии доступа в интернет через персональный смартфон с операционной системой Android версии 7.0 и выше, подписавшие добровольное информированное согласие на участие в проекте.

Критерии исключения: наличие хронических заболеваний и состояний, требующих медикаментозной терапии и соблюдения особых рекомендаций по режиму питанию и ФА или ограничивающих выполнение требований, предусмотренных протоколом исследования.

Все пациенты-участники каждого регионального центра прошли процедуру независимой рандомизации в соотношении 1:1 на первом очном визите. По результатам рандомизации в каждом регионе сформировано две группы наблюдения:

- группа активного наблюдения (4 очных визита за 6 месяцев);
- группа самоконтроля (2 очных визита за 6 месяцев).

Стартовый очный визит включал опрос пациента по единой анкете (социально-демографические характеристики участника, анкета по выявлению поведенческих факторов риска (ФР)), объективное обследование (антропометрия) с последующим проведением профилактического персонифицированного мотивационного консультирования и постановкой целей по модификации привычек питания и целевому снижению МТ в диапазоне 5-10% от исходного за период наблюдения.

Пациентам обеих групп предоставлено в аренду оборудование для дистанционного мониторинга и установлено на смартфон мобильное приложение «Доктор ПМ» - первая инновационная дистанционная технология оказания персонализированной долгосрочной помощи и поддержки пациентам в процессе снижения МТ. Технология мобильного здравоохранения включала алгоритм анализа передаваемых пациентом данных с последующей отправкой чат-ботом автоматических текстовых сообщений (информационного,

поддерживающего и мотивационного характера), а также возможность ввода и передачи запрашиваемых данных и получением визуальной информации (графического изображения) динамики поведенческих ФР и достижения поставленной цели.

Контролируемые показатели: на каждом очном визите – МТ, ИМТ, ОТ, параметры пищевого поведения (пищевые привычки); 2-3 раза в неделю - МТ, параметры ФА (общее количество пройденных шагов, быстрых шагов); еженедельно – частота потребления продуктов питания.

Критерии эффективности вмешательства: снижение МТ на 5 % и более от исходного значения (достижение целевого уровня снижения МТ) по результатам объективных данных при проведении офисных измерений во время очных визитов.

Анализируемые данные сформированы в базу данных с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Статистический анализ согласно поставленным задачам исследования проводился с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics версии 23.0.

Использованы стандартные методы описательной статистики: номинальные качественные показатели представлены в абсолютных значениях и процентных отношениях (n, %). Сравнение качественных показателей проводился с помощью критерия $\chi 2$ Пирсона, сравнение количественных данных – критерия Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса, критерия Вилкоксона. Уровень статистической значимости определен как $p < 0,05$.

Результаты исследования

Участие пациентов в исследовании. В общей для всех центров когорте из 600 отобранных пациентов полностью соответствовали критериям включения 583 чел., завершили весь период наблюдения большинство пациентов 546 чел. (93,7%), в том числе среди пациентов, наблюдавшихся в ЦЗ 94,2%, в ОМП 94,6% и на ФАПах 92,4% ($p>0,05$).

Характеристика участников исследования.

Средний возраст пациентов, наблюдавшихся в различных МО ПМСП составил 42,8 ± 9,4 лет и был сопоставим: в ЦЗ 43,1 ± 9,8 лет, в ОМП - 41,6 ± 8,7 лет, на ФАПах- 42,9 ± 9,0 лет ($p=0,328$). Во всех МО большинство наблюдавшихся были женщины, однако доля наблюдавшихся мужчин оказалась больше в ЦЗ и ОМП (14,9% и 13,6% соотв.), чем на ФАПах (6%) $p=0,014$. Статистически значимых различий по ИМТ среди пациентов различных типов МО выявлено не было ($p>0,05$).

Результативность профилактического вмешательства. Установлено, что во всех типах МО, оказывающих ПМСП (ЦЗ, ОМП, ФАПах) в течение 6 месяцев наблюдения выполненное профилактическое вмешательство (очные визиты с проведением индивидуального углубленного профилактического консультирования и последующий дистанционный контроль с применением

технологии мобильного здравоохранения) обеспечивает снижение основных контролируемых антропометрических показателей (МТ, ИМТ и ОТ) по внутригрупповым сравнениям (p<0,001). Значимых различий по динамике антропометрических показателей между различными МО выявлено не было (p>0,05). *По объединенным данным* пациенты двух групп вмешательства статистически значимо (p <0,01) снизили МТ, ИМТ и ОТ, и на заключительном визите не отмечено достоверных различий в контролируемых параметрах (p> 0,05) между группами активного вмешательства и самоконтроля.

Достижение целевых показателей. В разных организационных моделях получены статистически значимые различия по показателю *«доля лиц, достигших целевого уровня снижения МТ»* (5% снижения от исходного показателя). Так, этот показатель оказался достоверно выше в ЦЗ и ФАПах и составил 46,7% и 45,1% соответственно, чем в ОМП – 23,9%, p <0,05.

Динамика пищевых привычек. Во всех типах МО при дистанционном контроле с использованием технологии мобильного здравоохранения успешнее всего происходит коррекция привычек питания относительно потребления продуктов с избыточным содержанием жиров по сравнению с исходным уровнем, p <0,05. В МО, где была выше доля лиц, достигших целевого уровня МТ (ЦЗ и ФАПах), оказалось также выше снижение потребления продуктов с избыточным содержанием простых углеводов. Потребление продуктов, содержащих клетчатку (овощи, фрукты, злаковые продукты), увеличилось в ЦЗ (на 13,5%) и ОМП (на 26,2%). Среди сельского населения (ФАПы) удалось получить удовлетворительный показатель достижения целевого уровня снижения МТ, но без увеличения потребления фруктов и овощей, что требует дальнейшего детального изучения (рисунок 1).

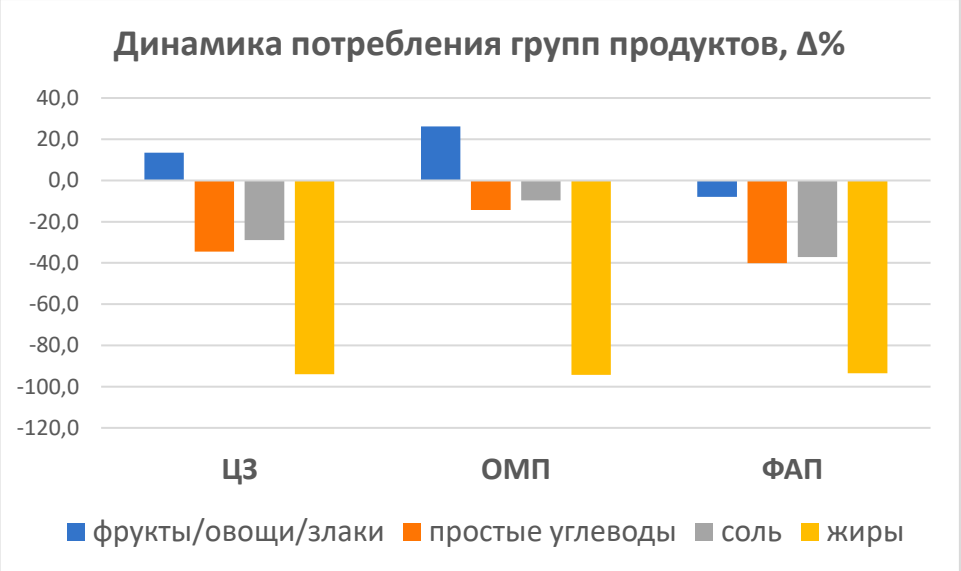


Рисунок 1. Динамика потребления основных групп продуктов среди участников различных медицинских организаций первичной медико-санитарной помощи

Динамика физической активности. В ЦЗ среди участников на протяжении всего периода наблюдения продемонстрирован более высокий уровень ФА, выраженный в общем количестве ежедневных шагов, вместе с тем, отмечены периоды роста и снижения темпа ФА (рисунок 2). Различий по уровню и темпам динамики количества быстрых шагов среди участников всех типов МО на протяжении периода наблюдения не выявлено.

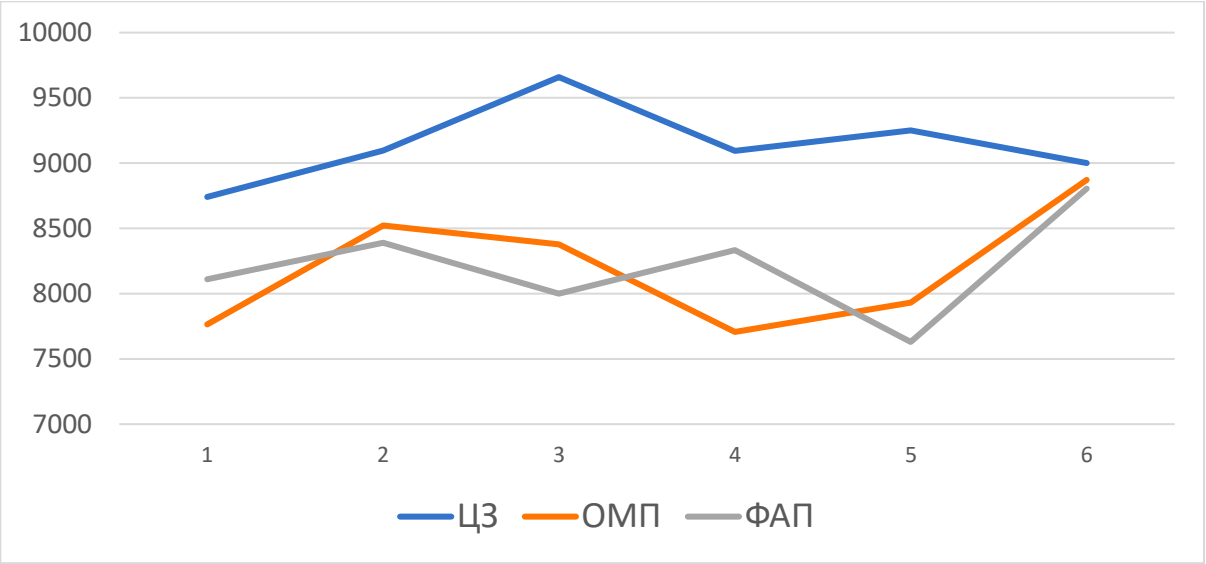


Рисунок 2. Динамика общего количества ежедневных шагов среди участников различных медицинских организаций первичной медико-санитарной помощи (медианное значение)

Заключение

Показано, что во всех типах МО, оказывающих ПМСП (ЦЗ, ОМП, ФАПах) комплексная технология углубленного персонифицированного профилактического консультирования и дистанционного контроля с применением технологий мобильного здравоохранения показала эффективность разной степени. Таким образом, на сегодняшний день имеющиеся организационные модели медицинской профилактики результативны для внедрения в практику новых цифровых технологий дистанционного контроля поведенческих ФР повышенной МТ. Полученные результаты могут быть учтены при дальнейших разработках и усовершенствовании технологий дистанционного контроля ФР в эпоху цифровой трансформации мер медицинской профилактики в здравоохранении при условии учета организационных аспектов их внедрения в реальную практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Масленникова Г.Я., Оганов Р.Г., Драпкина О.М. Современные глобальные, региональные и национальные приоритетные стратегические направления профилактики и контроля неинфекционных заболеваний // Профилактическая медицина, 2020, Т. 23, № 2, С. 7–12.

2. Hruby A., Hu F.B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture // Pharmacoeconomics, 2015, Т. 33, № 7, С. 673–689.

3. Ng M., Fleming T., Robinson M., Thomson B., Graetz N., Margono C. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 // Lancet, 2014, Т. 384, № 9945, С. 766–781.

4. Шальнова С.А., Деев А.Д., Баланова Ю.А., Капусина А.В., Имаева А.Э., Муромцева Г.А. Двадцатилетние тренды ожирения и артериальной гипертонии и их ассоциации в России // Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2017, Т. 16, № 4, С. 4–10.

5. Ricci G., Tomassoni D., Pirillo I., Sirignano A., Sciotti M., Zaami S. Obesity in the European region: Social aspects, epidemiology and preventive strategies // European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2018, Т. 22, № 20, С.6930–6939.

6. Nittari G., Scuri S., Petrelli F., Pirillo I., di Luca N.M., Grappasonni I. Fighting obesity in children from European World Health Organization member states. Epidemiological data, medical-social aspects, and prevention programs // Clinical Therapeutics, 2019, Т. 170, №3, С. 223–230.

7. Chatterjee A., Prinz A., Gerdes M., Martinez S. Digital Interventions on Healthy Lifestyle Management: Systematic Review // Journal of Medical Internet Research, 2021, Т. 23, № 11, С.26931.

8. Beleigoli A.M., Andrade A.Q., Cançado A.G., Paulo M.N., Diniz M.F., Ribeiro A.L. Web-based digital health interventions for weight loss and lifestyle habit changes in overweight and obese adults: Systematic review and meta-analysis // Journal of Medical Internet Research, 2019, Т. 21, № 1, С.298

9. Lyzwinski L.N., Caffery L.J., Bambling M., Edirippulige S. Consumer perspectives on mHealth for weight loss: a review of qualitative studies // Journal of Telemedicine and Telecare, 2018, Т. 24, № 4, С. 290–302.

10. Robertson M.C., Raber M., Liao Y., Wu I., Parker N., Gatus L. Patterns of self-monitoring technology use and weight loss in people with overweight or obesity // Translational Behavioral Medicine, 2021, Т. 11, № 8, С.1537–1547.

ЦИФРОВОЙ ДВОЙНИК ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

И.А. Попова (Popova Inga Aleksandrova), П.Ф. Литвицкий (Litvitsky Peter Frantsevich), А.С. Силаева (Silaeva Aleksandra Sergeevna), Д.А. Сахно (Sakhno Daria Alexandrovna)
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Введение

Технология «цифрового двойника» (ЦД) является предметом интереса в различных отраслях, а в последние годы в системе здравоохранения и медицины. Компания *Gartner* в 2019 г. проанализировала и включила концепцию ЦД в список лучших стратегических технологических трендов, которые позволят повысить эффективность и устойчивость бизнеса [1].

В России в соответствии с указом Президента РФ от 09.05.2017 № 203 «Стратегия развития информационного общества в РФ на 2017–2030 гг.» [2] в 2018 г. был создан консорциум «Цифровое здравоохранение», целью работы которого также стал переход медицины на модель «цифрового двойника» [3]. ЦД является революционным инструментом в персонифицированной медицине. С помощью новых технологий, таких как искусственный интеллект (ИИ), возможно визуализировать виртуальную копию пациента. Это позволит лучше изучить заболевание, прогнозировать его течение, определить тактику оптимального лечения, снизить риски и исключить врачебные ошибки. В настоящее время часто можно встретить примеры описания ЦД в таких социально значимых сферах медицины, как кардиология, онкология, общая хирургия [4,5,6]. Однако не менее важными являются воспалительные формы патологии верхних дыхательных путей. Острые и хронические инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей широко распространены среди населения и регистрируется во всех возрастных группах, занимая лидирующие позиции (до 90% случаев) по обращаемости пациентов к врачу [7].

В последние годы все чаще в литературе приводят данные, характеризующие хронический тонзиллофарингит (ХТФ), как полиэтиологическое заболевание [8, 9]. Доказана роль вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) [10], других герпесвирусов [11] в развитии патологического процесса и поддержании воспаления нёбных миндалин и слизистой оболочки ротоглотки, который в конечном итоге приводит к хроническому течению и рецидивам заболевания [12]. Это обусловлено в первую очередь тем, что вирус герпеса обладает тропизмом к слизистым оболочкам и способен персистировать в них [13]. Кроме того, немаловажную роль в этиологии

ХТФ играет бета-гемолитический стрептококк группы А (БГСА). Значима роль БГСА и в развитии острого тонзиллофарингита [14]. Несмотря на то, что частота заболеваемости в России острой ревматической лихорадкой (ОРЛ) снижается, скрытое носительство БГСА все еще представляет серьезную проблему [15]. Помимо ХТФ актуальным в оториноларингологии является такое воспалительное заболевание, как риносинусит (РС). Часто он развивается вследствие ОРВИ [16, 17] на фоне снижения местной и общей реактивности организма. Однако лишь у 1-2% пациентов он осложняется бактериальным РС [16]. Неконтролируемое и необоснованное назначение пациентам антибактериальных препаратов способствует развитию такого нежелательного явления, как антибиотикорезистентность. Растущая резистентность к антибиотикам заставила экспертов ВОЗ признать эту проблему глобальной угрозой здоровью человека (ВОЗ, 2014 г.) [18]. В сложившейся ситуации необходима разработка новых стратегий лечения, одной из которых стало использование бактериофагов. Их явным преимуществом относительно антибиотиков стала сохраняющаяся способность к делению, пока в очаге воспаления присутствует возбудитель инфекции [19, 20].

Таким образом, проблема инфекционно-воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей требует четкого соблюдения принципа этиопатогенетического лечения. Создание ЦД поможет систематизировать, структурировать и анализировать полученные данные и с помощью ИИ подбирать оптимальную тактику лечения.

Цель настоящей работы

Создание цифрового двойника инфекционно-воспалительных форм патологии верхних дыхательных путей.

Материалы и методы

Исследование проведено в соответствии с Хельсинской декларацией и выполнялось по международным правилам работы с биоматериалом людей. Все пациенты предоставили письменное информированное согласие перед включением в исследование.

Характеристика пациентов

В основу исследования легли результаты обследования и лечения 800 пациентов, обратившихся в клинику ООО "КЛИНИКА ЦЕНТРАЛЬНАЯ" (Москва, Россия) в период с января 2020 г. по январь 2023 г. Все обследуемые были разделены на 5 групп в соответствии с нозологической формой заболевания: острый риносинусит (ОРС), хронический риносинусит (ХРС), острый тонзиллофарингит (ОТФ), хронический тонзиллит (ХТ), хронический фарингит (ХФ). Критериями включения были: наличие установленных клинических диагнозов у пациентов согласно Стандартам оказания медицинской

помощи населению по профилю “оториноларингология” (приказ Министерства Здравоохранения Российской Федерации №905н от 12.11.2012 г.): острый риносинусит (ОРС), хронический риносинусит (ХРС), острый тонзиллофарингит (ОТФ), хронический тонзиллит (ХТ), хронический фарингит (ХФ).

Критерии исключения: пациенты младше 18 и старше 75 лет; наличие тяжелых соматических заболеваний; психические заболевания; беременность; противопоказания к терапии, используемой в исследовании; соматические заболевания в острой фазе или хронические в фазе обострения; пациенты, имеющие противопоказания к использованию терапии, применяемой в исследовании; пациенты, находящиеся под действием психотропных препаратов; невозможность и нежелание пациента дать добровольное информированное согласие на участие в исследовании или на выполнение требований исследования.

Критерии исключения в исследование: отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании или исключение пациента из исследования врачом.

Клиническое обследование

Диагностические мероприятия проводились в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Пациенты с ОРС и ХРС предъявляли жалобы на заложенность носа, слизисто-гнойные выделения из носа и/или боль в проекции околоносовых пазух. Жалобы могли варьировать в зависимости от формы и стадии (обострение ХРС или картина вне обострения) заболевания. Пациенты с ОТФ, ХТ, ХФ жаловались на боль в горле, неприятный запах изо рта и увеличение лимфатических узлов в подчелюстной области. Жалобы могли варьировать в зависимости от формы и стадии (обострение ХТ/ХФ/ОТФ или картина вне обострения) заболевания. Динамические осмотры ЛОР-органов были выполнены на 28-е, 90-е и 180-е сутки, оценку состояния пациента и наличие рецидива воспалительной формы патологии проводили через 6 месяцев от начала лечения.

Идентификация герпесвирусов методом ПЦР в режиме реального времени Real time.

У всех пациентов методом ПЦР в реальном времени был диагностирован один или несколько типов герпесвирусов в различных сочетаниях: герпесвирусы 1, 2, 6 типов (HSV-1,2, HHV-6), вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV) на этапе скрининга. Повторная диагностика методом ПЦР Real-time проводилась на 42 сутки от начала лечения. Соскобы проводились со слизистой оболочки полости носа, нёбных миндалин и с участков наиболее выраженных изменений слизистой оболочки ротоглотки (зоны гиперемии, отёка и сосудистой инъекции слизистой оболочки ротоглотки или носа, с гипертрофированных участков

лимфоидной ткани глотки (лимфоидных гранул и боковых валиков глотки) в зависимости от нозологической формы. Биоматериал хранился в холодильнике при температуре +2…+8°С не более 10-12 часов перед проведением исследования. Исследуемый материал, взятый с помощью одноразовых стерильных зондов, переносился в пробирку с транспортным раствором. Пробирки с биологическим материалом доставлялись в молекулярно-биологическую лабораторию. ДНК герпесвирусов различных типов выделяли с помощью набора реагентов "РеалБест" методом ПЦР в режиме реального времени.

Микробиологическое исследование с определением чувствительности к бактериофагам и антибиотикам

Материалом для исследования служили посевы со слизистой оболочки носа и ротоглотки. Сразу после получения патологического материала ватный тампон погружали в транспортную среду, в качестве которой использовали стерильный сердечно-мозговой бульон (BHI, BBL, USA). В течение 40 минут собранный материал доставляли в лабораторию, где производили предварительную инкубацию в термостате при температуре 37,0° С в течение 3 часов, затем производили посев на плотные питательные среды. На этих средах производили инкубацию в термостате при 37° С в течение 1-2 суток. В течение 3 суток инкубировали чашки со средой Sabouraud Dextrose agar. Полученные колонии микроорганизмов подвергали макро- и микроскопическому изучению, производили подсчет количества колоний каждого типа. При интерпретации полученных результатов учитывали количественный и качественный состав микрофлоры и определяли чувствительность к антибиотикам. Бактериофаги имеют выраженное литическое действие на микроорганизмы. Эту особенность используют для определения их вида. В две пробирки с мясопептонным бульоном засевали исследуемую культуру бактерий. В одну из них добавляли несколько капель индикаторного фага. Сравнивали мутность бульона в контрольной и опытной пробирках и делали вывод о чувствительности микроорганизмов к литическому действию бактериофагов. С этой целью использовали плотную питательную среду, на которую газоном засевали исследуемую культуру бактерий. Посевы инкубировали в термостате при 37 °С в течение 18−24 ч и фиксировали наличие прозрачных круглых пятен, которые свидетельствовали о литическом действии бактериофага. Позитивный результат свидетельствовал о принадлежности бактерий к определенному виду.

Лечебная тактика

Лечение воспалительных форм патологии верхних дыхательных путей проводилось в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи Министерства Здравоохранения

Российской Федерации. При выполнении микробиологического исследования и ПЦР-диагностики Real time пациентам проводился персонифицированный подбор антибактериальных препаратов и бактериофагов к выделенным микроорганизмам, персонифицированный подбор противовирусного лечения.

Анализ данных с помощью ИИ

Анализ данных был выполнен с использованием методологии CRISP-DM (Cross-Industry Standard Process for Data Mining) (рис. 1) [21].

Рисунок 1. Методология CRISP-DM

Для выбора методов сравнения результатов лечения пациентов различных групп предварительно выполнялась проверка выборок на соответствие нормальному закону распределения. Поскольку большая часть анализируемых выборок подчинялась закону распределения, отличающегося от нормального, для выполнения статистического анализа использовались непараметрические методы. Полученные в результате статистически достоверные различия между группами позволяли разработать оптимальную тактику лечения пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей (рис.2).

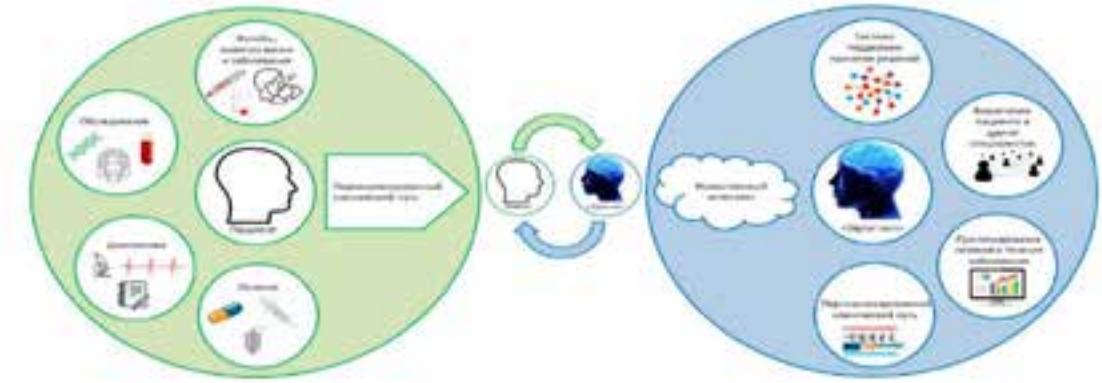


Рисунок 2. Схема формирования цифрового двойника на основании персонифицированного клинического подхода

Результаты

С учетом данных клинического и лабораторно-диагностических исследований был осуществлён персонифицированный подбор лекарственных препаратов и создана база данных пациентов с хроническим тонзиллофарингитом [22] (рис.2). База данных пациентов с риносинуситом и острым тонзиллфарингитом находится на стадии регистрации.

Пациенты с ХТФ, каждому из которых присвоили индивидуальный идентификационный номер, были разделены на три группы согласно назначенному лечению: Группа А (валацикловир 500 мг 2 раза в день), группа В (аминодигидрофталазиндион натрия 25 мг сублингвально 4 раза в сутки) и группа С (аминодигидрофталазиндион натрия 25 мг сублингвально 4 раза в сутки, валацикловир 500 мг 2 раза в день). Лечение проводилось в течение 10 дней. Пациентам всех трех групп были назначены промывания лакун нёбных миндалин растворами антисептиков. Выполнялся ПЦР-тест в режиме Real Time, измерялась температура в подмышечной впадине в течение 10 минут. У всех пациентов определялся субфебрилитет. При этом, на основании клинических данных и консультаций специалистов (терапевт, онколог) были исключены другие причины развития субфебрильной лихорадки. Методом PCR–диагностики Real-time в периферической крови определяли ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типа, вируса Эпштейна-EBV, CMV и HHV-6.

Устанавливали также частоту встречаемости герпесвируса 1, 2, 6, цитомегаловируса, вируса Эпштейн-Барр у пациентов с хроническим тонзиллофарингитом и субфебрилитетом до и после лечения на основании PCR-диагностики Real-time.

Определяли показатели шкалы оценки выраженности признаков ХТФ, динамику температуры тела при исследуемых схемах лечения; корреляцию между клиническим течением заболевания и результатами диагностических исследований; оценивали частоту рецидивов субфебрильной лихорадки через 6 месяцев после завершенного курса лечения с последующей статистической обработкой полученных данных (получено свидетельство о регистрации «База данных клинико-лабораторных данных пациентов с хроническим тонзиллофарингитом и субфебрилитетом, ассоциированными с герпесвирусной инфекцией» N° 2023623473 от 16.10.2023).

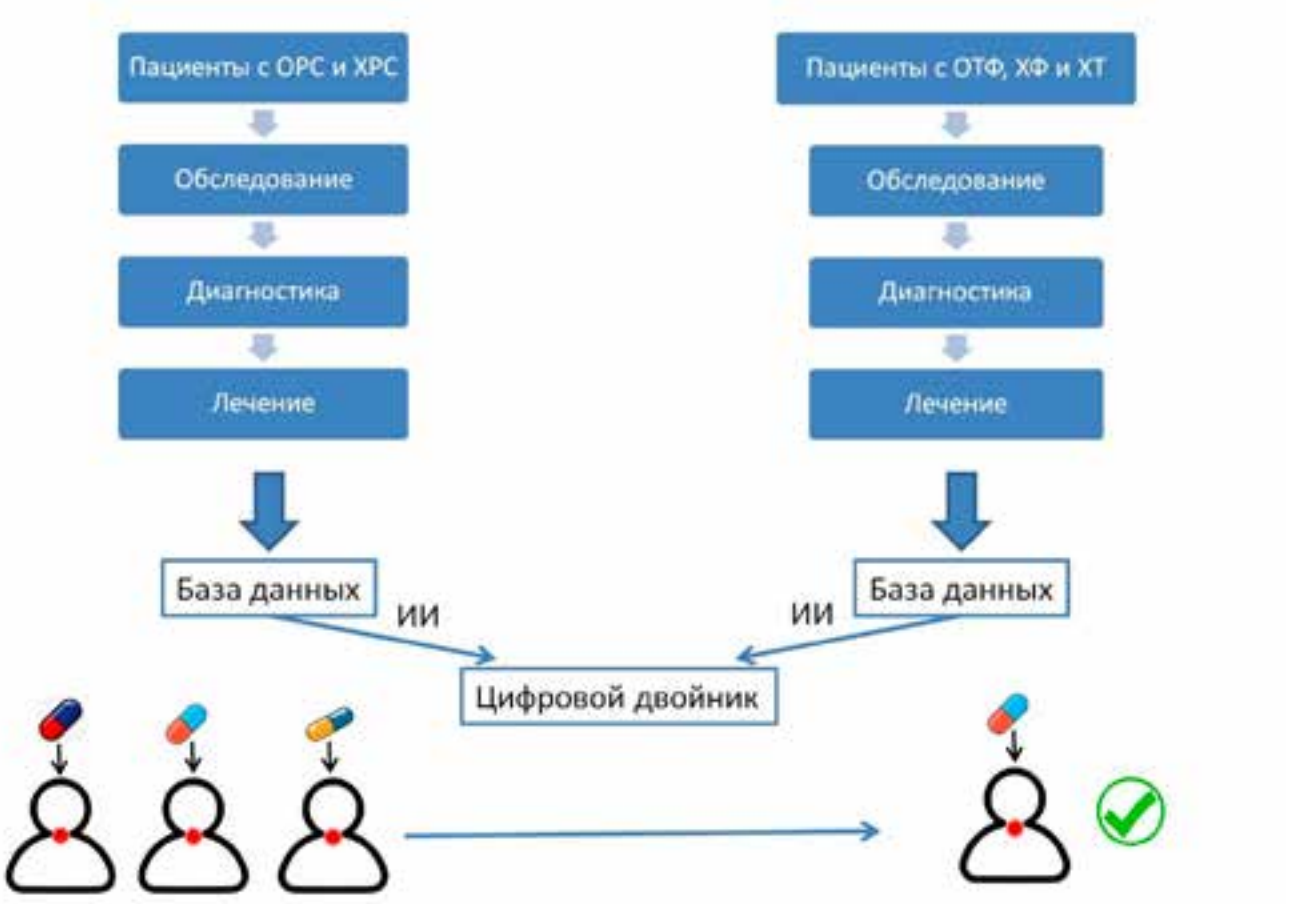


Рисунок 3. Схема формирования баз данных и цифрового двойника заболевания

Обсуждение

Благодаря результатам анализа и созданию с использованием искусственного интеллекта нескольких параметров заболевания, включая клинические и параклинические результаты, выявлению биомаркеров, данные о пациенте, о его жизненных обстоятельствах и планах, а также

о выполненных медицинских процедурах, возможно создание цифрового двойника заболевания, сопоставленного с характеристиками данного пациента. что позволит медицинским работникам обрабатывать большие объемы данных о пациентах. Такой подход, основанный на предоставлении врачу научно-обоснованной информации о пациенте может способствовать персонализированному и эффективному лечению за счет стандартизированной интеграции данных из множества источников. ЦД действует как система поддержки принятия оптимальных врачебных решений. Весьма актуальным является создание ЦД воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей. Распространенность их у человека чрезвычайно высока.

Создание ЦД позволит медицинскому персоналу принять наилучшее решение с максимально возможной вероятностью достижения положительного результата у пациентов с воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей. Разработка ЦД будет способствовать также реализации индивидуальных клинических маршрутов, поддержке общения между врачом и пациентом и облегчению совместной работы по принятию решений. Благодаря наглядному отображению предварительно проанализированных данных о пациенте на приборной панели, такие аспекты как вовлеченность его в процесс принятие индивидуальных клинических решений, а также прогнозирование прогрессирования заболевания и моделирование лечения будут вполне возможными. Использование ЦД воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей обеспечит должное качество медицинской помощи, позволит снизить финансовые затраты и сократить сроки лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Top 10 Strategic Technology Trends for 2019: Digital Twins. Gartner Research, 13 March 2019. https://www.gartner.com/en/documents/3904569/top-10-strategic-technology-trends-for-2019-digital-twin
2. Указ Президента РФ от 9 мая 2017 г. № 203 «О Стратегии развития информационного общества в Российской Федерации на 2017–2030 годы». Available from: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71570570/
3. https://digital.gov.ru/ru/events/37934/
4. Corral-Acero J. et al. The ‘Digital Twin’to enable the vision of precision cardiology //European heart journal. – 2020. – Т. 41. – №. 48. – С. 4556-4564.
5. Wise H. C., Solit D. B. Precision oncology: three small steps forward //Cancer Cell. – 2019. – Т. 35. – №. 6. – С. 825-826.
6. Куракова Н.Г., Цветкова Л.А., Полякова Ю.В. Цифровые двойники в хирургии: достижения и ограничения. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2022;(5):97-110. https://doi.org/10.17116/hirurgia202205197

7. Еремин С. А. и др. БАЗИСНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ //Медицинский совет. – 2023. – Т. 17. – №. 7. – С. 188-195.
8. Kriukov A. I. et al. The role of bacteriological examination in diagnosis of chronic tonsillitis //Vestnik Otorinolaringologii. – 2008. – №. 3. – С. 35-38.
9. Pal'chun VT et al. Pharinx chronical disease. Moscow, Geotar-Media; 2007.
10. Dogan B. et al. The correlation between EBV viral load in the palatine tonsils of patients with recurrent tonsillitis and concurrent serum titers of VCA–IgG //European archives of oto-rhino-laryngology. – 2010. – Т. 267. – С. 143-148.
11. Berkhout A., Georghiou P. R., Nourse C. Pharyngotonsillitis in adolescents: Remember herpes simplex virus //Journal of Paediatrics and Child Health. – 2022. – Т. 58. – №. 6. – С. 1081-1082.
12. Huang C. W. et al. Clinical features of gingivostomatitis due to primary infection of herpes simplex virus in children //BMC Infectious Diseases. – 2020. – Т. 20. – С. 1-9.
13. Zhu S., Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus //Virulence. – 2021. – Т. 12. – №. 1. – С. 2670-2702.
14. Van Driel M. L. et al. Different antibiotic treatments for group A streptococcal pharyngitis //Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2021. – №. 3.
15. Маколкин В. И. Внутренние болезни: учебник/Маколкин ВИ, Овчаренко СИ, Сулимов ВА-6-е изд., перераб. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017.-768 с //Текст: электронный//URL: https://www. rosmedlib. ru/book/ISBN9785970441572. html. – 2015.
16. В. И. Внутренние болезни: учебник / Маколкин В. И. , Овчаренко С. И. , Сулимов В. А. - 6-е изд., перераб. и доп.Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с. - ISBN 978-5-9704-3335-5.
17. Fokkens W. J. et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists //Rhinology. – 2012. – Т. 50. – №. 1. – С. 1-12.
18. Anselmo-Lima W. T., Sakano E. Rhinosinusitis: evidence and experience. – 2015.
19. Mansoorianfar M. et al. MXene–laden bacteriophage: A new antibacterial candidate to control bacterial contamination in water //Chemosphere. – 2022. – Т. 290. – С. 133383.
20. Hill C., Mills S., Ross R. P. Phages & antibiotic resistance: are the most abundant entities on earth ready for a comeback? //Future microbiology. – 2018. – Т. 13. – №. 06. – С. 711-726.
21. https://www.ibm.com/docs/it/SS3RA7_18.3.0/pdf/ModelerCRISPDM.pdf.

22. «База данных клинико-лабораторных данных пациентов с хроническим тонзиллофарингитом и субфебрилитетом, ассоциированными с герпесвирусной инфекцией» N° 2023623473 от 16.10.2023

ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОГО УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ОНЛАЙН-ДИАГНОСТИКИ ЗДОРОВЬЯ

К.В. Ракова[1,2]*

[1]Центр изучения социокультурных изменений Института философии РАН

[2]МГИМО МИД России

**e-mail*: rakova@iph.ras.ru

В сфере медицины идет становление глобальной «социо-техно-природной реальности» [1, 2], развивающейся нелинейно, но в локальных контекстах, что обуславливает необходимость в комплексном учете влияния глобо-локальных, линейных и нелинейных факторов на устойчивое развитие современной российской системы здравоохранения. Наиболее значимым является триада сложных рисков, с которыми столкнулось медицинское сообщество сегодня: создание принципиально новых высокотехнологичных цифровых систем и их внедрение в медицину; явные и латентные вызовы пандемии Covid-19 и ее долгосрочных последствий и «побочных эффектов»; последствия повсеместной цифровизации остальных сфер жизнедеятельности общества, которая основана на принципах формальной рациональности и прагматической эффективности. Характер данных рисков амбивалентен – они представляют собой не только реальные угрозы пациенту и медицинскому работнику, но и дают потенциальный шанс для перехода к качественно новому типу устойчивого развития здравоохранения.

Проблема управления рисками онлайн-диагностики здоровья, как и стремительное внедрение цифровых технологий, возникла в современном обществе не так давно и первые фундаментальные научные исследования начали проводиться в середине второго десятилетия XXI века. В последние годы растет количество научных работ, посвященных проблемам онлайн-диагностики здоровья и самолечения. Ученые из разных стран проводят многочисленные теоретические и эмпирические исследования о том, какое воздействие на индивидов оказывают приложения и онлайн-сервисы, позволяющие пользователям самостоятельно поставить себе диагноз, выявить симптомы того или иного заболевания, начать прием медикаментов, не задумываясь о том, какие риски может повлечь за собой самостоятельная онлайн-диагностика без наблюдения специалистов.

Среди российских ученых, в том числе социологов, занимающихся рисками телемедицины и самостоятельной диагностики здоровья с помощью цифровых устройств и медицинских онлайн-сервисов, следует выделить исследования, посвященные изучению и анализу: сложностей внедрения цифровых технологий в процесс диагностики здоровья и перспектив развития телемедицинских технологий в российской системе здравоохранения [3-6]; ключевых проблем и вызовов использования медицинских интернет-платформ и онлайн-

сервисов [7-11]; а также влияния пандемии коронавируса, режима вынужденной самоизоляции и социальной дистанции на общественное сознание, социальные практики и ценностные установки индивидов [12-21].

В современном обществе, которому свойственна имманентно усложняющаяся динамика социальных процессов и флуктуаций, происходят невиданные ранее трансформации и «*футур-шоки*» (Э. Тоффлер), среди которых особое значение имеет процесс повсеместной цифровизации ключевых сфер жизнедеятельности человека, распространяющийся на диагностику и лечение людей. Осознанный выбор индивидов в пользу самостоятельной онлайн-диагностики здоровья без коммуникации лицом-к-лицу со врачом приводит к возникновению амбивалентных труднопрогнозируемых рисков сложного толка, которые, с одной стороны, проявляются функционально, т.е. открывают для пациента и медицинского работника новые возможности для обеспечения здоровья, а, с другой, - влекут ненамеренные дисфункциональные последствия.

В контексте беспрецедентно высокой скорости распространения цифровых технологий в области здравоохранения наблюдается «парадокс антиномичного вектора прогресса», согласно которому при движении человечества в сторону технологического прогресса с целью перехода на новый уровень общественного развития происходит неизбежное столкновение индивидов лицом-к-лицу с рисками принципиально нового, более сложного и непредсказуемого типа. В условиях активного использования цифровых технологий в современные медицинские практики и их открытого доступа востребованы теоретические инновации в рассмотрении феномена риска и природы самостоятельной диагностики здоровья с использованием цифровых технологий. Для анализа сложных рисков, связанных с использованием «умных устройств» при диагностике востребована гуманизация научного знания, что является императивом для перехода к глобо-локальному устойчивому развитию современной системы здравоохранения. Следует отметить, что под термином «риски и блага самостоятельной онлайн-диагностики» мы понимаем возможность наступления функциональных и/или дисфункциональных последствий для организма человека, вызванных самостоятельным использованием медицинских цифровых устройств, приложений и информационных онлайн-систем индивидом с целью определения симптомов болезни или причин плохого самочувствия, недомогания и самостоятельным принятием решения относительно методов лечения и приема медикаментов без предварительной консультации *лицом-к-лицу* с медицинским работником. Под медицинскими не-человеческими актантами мы рассматриваем современные медицинские цифровые технологические устройства, которые включают в себя: передовое медицинское программное обеспечение и стационарное оборудование, функционирующее на основе алгоритмов искусственного интеллекта; медицинские диагностические роботы, роботы-хирурги, эндоскопические боты, нано-роботы и роботы-ассистенты с сенсорными датчиками распознавания; 3D-биопринтеры (используются в

медицине для печати органов, био-тканей, высокоэластичного костного материала и др.); автоматизированные сенсорные протезы и бионические имплантируемые устройства; цифровые «умные устройства» (или «смарт-девайсы») со встроенными алгоритмами искусственного интеллекта; медицинские приложения и программы для смартфонов и смарт-часов и т.п. В ходе исследования, нами было сформулировано шесть классов в виде дихотомических пар амбивалентных *рисков и благ* самостоятельного онлайн-лечения:

- биологические – связаны с положительным или негативным влиянием на организм человека в результате самостоятельной онлайн-диагностики здоровья с использованием медицинской информации, полученной из Интернета и/или с помощью «умных устройств»;
- техногенные – эффективное и успешное с точки зрения медицины функционирование не-человеческих актантов или наступление «нормальных аварий» (Ч. Перроу), технических сбоев, выхода из строя цифровых медицинских гаджетов или приложений, обусловленные особенностями сложных медицинских цифровых систем и устройств с высокой степенью сложности алгоритмов их функционирования;
- техно-биологические – смешанный тип рисков и благ самостоятельной онлайн-диагностики здоровья, включающий в себя вероятность наступления благоприятного или неблагоприятного воздействия на организм человека как результат функционального или дисфункционального использования медицинских цифровых устройств и программ;
- риски и блага кибербезопасности – эффективное функционирование систем цифровой информационной защиты персональных данных пациента и соблюдение политики конфиденциальности его медицинской личной информации или потенциальная угроза наступления намеренной или ненамеренной «утечки» персональных данных пациента как нарушение политики конфиденциальности его медицинской личной информации;
- информационные – распространение достоверной или недостоверной медицинской информации о здоровье, методах лечения, приеме медикаментов и т.п., транслируемой как пользователями-обывателями и медицинскими работниками в сети Интернет;
- риски и блага для человеческого капитала медицинского работника и пациента – потенциальная возможность возрастания профессионального авторитета врача или потенциальная угроза экспертному мнению медицинского работника в контексте внедрения цифровых технологий в медицинскую практику.

На основе результатов проведенного нами контент-анализа научных публикаций, посвященных новейшим подходам в современной системе здравоохранения к управлению и контролю рисков самостоятельной онлайн-диагностики здоровья, нами была разработана и предложена совокупность факторов формирования культуры рационально-гуманистического самостоятельного онлайн-лечения в кооперации с медицинским работником в качестве эффективной стратегии по минимизации рисков и максимизации благ самостоятельной онлайн-диагностики здоровья, а также обеспечению устойчивого развития России и ее системы здравоохранения.

Фактор 1. Социальный контроль. Практика самостоятельной онлайн-диагностики здоровья с помощью цифровых медицинских технологий должна регулироваться политическими социальными институтами с целью обеспечения эффективного управления техно-биологическими и информационными рисками, а также угрозами кибербезопасности и рисками человеческому капиталу медицинского работника и здоровью пациента.

Фактор 2. Социальная прозрачность. Необходимо обеспечить «открытость» и «прозрачность» не только процесса получения медицинских услуг, но и функционирования высокотехнологичных цифровых медицинских систем и устройств, что позволит снизить потребность пациента в самостоятельном поиске медицинской информации в онлайн-пространстве, а также предоставит возможность для установления высокого уровня доверия между пациентом и врачом.

Фактор 3. Очная коммуникация со специалистом. Учитывая устойчивую тенденцию в обществе к популяризации здорового образа жизни, необходимо учитывать ее амбивалентную природу – с одной стороны, увеличивается количество приверженцев здорового образа жизни и правильного питания, а с другой стороны, роль врача как единственного источника достоверной медицинской информации замещается цифровыми не-человеческими актантами, в связи с чем предлагается сделать фокус на рациональное онлайн-самолечение в регулярной очной кооперации с врачом-специалистом.

Фактор 4. Социальная ответственность. В Интернете предоставлено большое количество медицинских, квази- и псевдомедицинских онлайн-платформ и ресурсов, которые активно используются пациентами при выборе медикаментов, составлении плана лечения, рациона и др., в связи с чем необходимо передать медицинским учреждениям и профильным специалистам функцию отбора, верификации и предоставления достоверных медицинских интернет-источников, которые могут использоваться пациентами не только для накопления медицинских знаний и компетенций и расширения человеческого капитала, но и для самостоятельной онлайн-диагностики здоровья в условиях, когда очная консультация с врачом труднореализуема по объективным причинам, не зависящим от пациента [22].

Предложенная нами совокупность факторов эффективного управления рисками онлайн-диагностики здоровья представляет собой квинтэссенцию рационально-гуманистического подхода к управлению здоровьем в условиях активного внедрения цифровых технологий в сферу медицины. Как справедливо отмечает В.В. Щербина, «превышение меры и темпов осуществляемых изменений часто порождает хаос и ведет к деформации (или разрушению) тех социальных образований, которые их реализуют, к социальному кризису, надолго обуславливающему последующее торможение процесса социальных изменений» [23, с. 62]. Так, использование разработанной нами совокупности факторов эффективного управления рисками онлайн-диагностики здоровья с рационально-гуманистическим стержнем может способствовать разработке стратегии по поддержанию наиболее рационального темпа внедрения и использования цифровых технологий в медицине, которая позволит избежать наступления кризисной ситуации в системе здравоохранения и возникновения потенциальных деформаций цифровой медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Urry J. Global Complexity. Cambridge: Polity Press, 2003. – 184 p.
2. Кравченко С.А. Цифровые риски, метаморфозы и центробежные тенденции в молодежной среде // Социологические исследования. – 2019. – №10. – С. 48–57.
3. Баранов А.А., Вишнева Е.А., Намазова-Баранова Л.С. Телемедицина — перспективы и трудности перед новым этапом развития // Педиатрическая фармакология. – 2013. – №3. – С. 6-11.
4. Леванов В.М., Камаев И.А., Перевезенцев Е.А., Грицай М.Ю. Телемедицина в эпидемиологической практике: состояние и перспективы // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2017. – №1(22). – С. 13–16.
5. Владзимирский А.В., Лебедев Г.С. Телемедицина: руководство. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2018. – 576 с.
6. Меньшикова Л.И. Телемедицинские технологии: выгода и риски // Здравоохранение. – 2017. – №9. – С. 96–102.
7. Гущин А.В. Здоровье и качество жизни населения: концепция интернет-системы сбора и обработки данных // Социологические исследования. – 2016. – №7. – С. 119-123.
8. Дмитриева Е.В., Фролов С.А. Социология здоровья: от теории к практике (на примере реализации коммуникативной программы «СМСмаме») // Социологические исследования. – 2020. – №7. – С. 118-127.
9. Лебедев Г.С., Фомина И.В., Шадеркин И.А., Лисненко А.А., Рябков И.В., Качковский С.В., Мелаев Д.В. Основные направления развития Интернет-технологий в здравоохранении (систематический обзор) // Социальные аспекты здоровья населения. – 2017. – №5(57). – С. 10.
10. Павленко Е.В., Петрова Л.Е. О готовности врачей к использованию новейших информационно-коммуникационных технологий в здравоохранении // Социологические исследования. – 2016. – №4. – С. 103-110.

11. Будневский А.В., Кравченко А.Я., Токмачев Р.Е., Черник Т.А., Токмачев Е.В., Летникова Ю.Б. Диагностические, прогностические и терапевтические возможности использования теста 6-минутной ходьбы у пациентов с хронической сердечной недостаточностью // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – №19(6). – С. 109-116.
12. Зубок Ю.А., Проказина Н.В. Отношение молодежи к новой коронавирусной инфекции: динамика представлений и практики здоровьесберегающего поведения. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2021. – № 29. – С. 752-757.
13. Карепова С.Г. К вопросу о новой «посткарантинной» социальной реальности в контексте последствия пандемии COVID-19 // Гуманитарные, социально-экономические и общественные науки. – 2021. – №6. – С. 32-39.
14. Kravchenko S.A. Being Cosmopolitan and Anti-Cosmopolitan – The Complex Risks of Covid-19: The Demand to Move from the 'Society of Normalisation' to Global Medical Surveillance // The European Sociologist. – 2020. – №45(1) [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.europeansociologist.org/issue-45-pandemic-impossibilities-vol-1/being-cosmopolitan-and-anti-cosmopolitan-complex-risks
15. Курюкин А.Н. «Новая нормальность» экономики, политики и социума в условиях COVID-19 и после // МИР (Модернизация. Инновации. Развитие). – 2021. – № 2(12). – С. 160–181.
16. Решетников А.В., Присяжная Н.В., Павлов С.В., Вяткина Н.Ю. Восприятие пандемии COVID-19 жителями Москвы // Социологические исследования. – 2020. – №7. – С. 138-143.
17. Ильичева Л.Е., Лапин А.В., Кремер П. Доверие в системе базовых ценностей России и Германии: последствия пандемии // Проблемы национальной стратегии. – 2021. – №1(64). – С. 97-118.
18. Михайленок О.М., Малышева Г.А. Пандемия COVID-19 – новый этап цифровой трансформации общества // Социальные и гуманитарные знания. – 2021. – № 1(7). – С. 28-39.
19. Стас М.С. Интернет и медицина: возможности и риски взаимодействия // Бюллетень медицинских интернет-конференций. - 2016. - №5(6). - С. 564.
20. Чернова Ж.В., Шпаковская Л.Л. Бесконечный день сурка»: социологический анализ учебных практик студентов вузов в ситуации вынужденной изоляции // Мониторинг общественного мнения: экономические и социальные перемены. – 2021. – №2(162). – С. 464-483.
21. Торкунов А.В., Рязанцев С.В., Левашов В.К. [и др.] Пандемия COVID-19: Вызовы, последствия, противодействие: [монография]. – М.: Аспект Пресс, 2021. – 248 с.
22. Ракова К.В. Управление рисками онлайн-диагностики здоровья: сравнительный анализ подходов в системах здравоохранения России и США : дис. … канд. социол. наук: 5.4.7 / Ракова Кристина Викторовна. – М., 2023. – 191 с.
23. Щербина В.В. Обосновано ли существование социологии управления как специальной социолого-регулятивной теории? // Социологические исследования. – 2021. – № 3. – С. 57-65. DOI: 10.31857/S013216250013727-2

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ СКРИНИНГ МЕЛАНОЦИТАРНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ С ПОМОЩЬЮ РОБОТИЗИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА

М.Е. Рисс, В.Г. Черенков

ФГБОУ ВО Новгородский государственный университет им Ярослава Мудрого

Аннотация. Проведен анализ результатов диагностики меланоцитарных новообразований кожи с применением роботизированного комплекса, разработанного на базе университета с участием студентов. Анализу послужили 232 фотоснимка после анкетного опроса 902 пациентов. Фото - и хромомикроскопическая диагностика на РК позволила оценить 90 микрофотоснимков как меланомоопасные невусы и у 5 пациентов определить их как поверхностные меланомы, требующие лечения. Расчет индекса меланоопасности проводился на РК в автоматизированном режиме по специальной формуле. Программа РК формирует рекомендации и библиотеку фотоснимков опасных меланоцитарных новообразований кожи для последующей диспансеризации в динамике. После моделирования меланоцитарных дисплазий и поверхностных меланом приступили к логистике «обучения нейронных сетей с учителем».

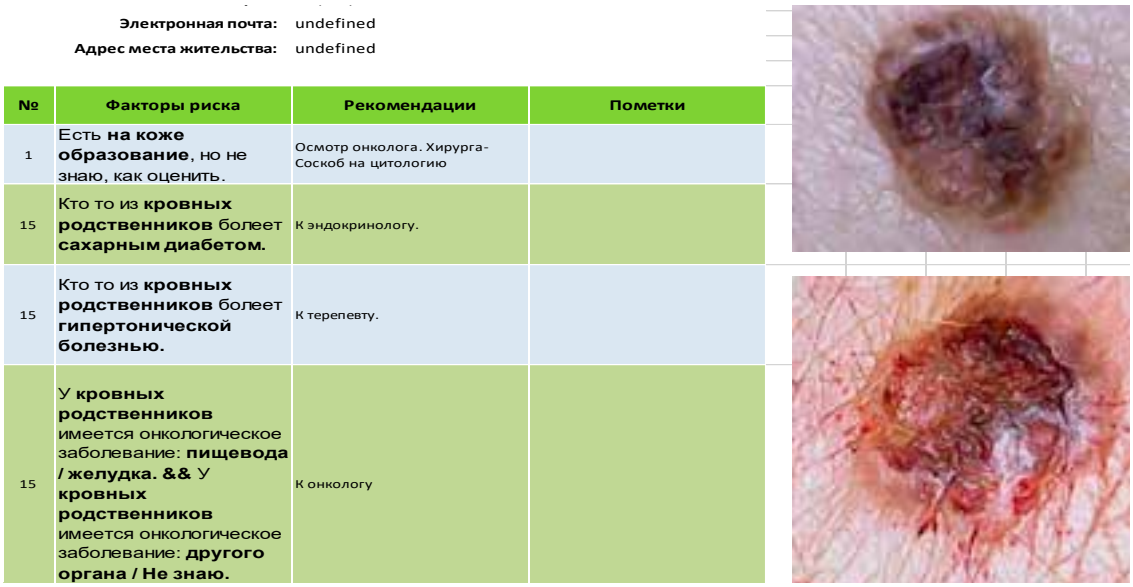
Ключевые слова: *роботизированный комплекс, скрининг, меланомоопасные невусы, поверхностные меланомы*

Введение. Известно, что меланома кожи до превращения в узловую форму в большинстве случаев (с неблагоприятным прогнозом) длительно время существует в виде меланоцитарных дисплазий и поверхностных меланом с благоприятным прогнозом. К сожалению, в РФ меланомы кожи устанавливаются преимущественно во II-IV стадии заболевания или вертикальной фазе роста – 61,1% [1]. Все большее развитие получает искусственный интеллект (ИИ) для обработки множества информационных данных, в частности автоматизированной рентгенографической интерпретации рака легкого и других визуализирующих методов [2]. Несмотря на ряд работ, связанных с попыткой идентификации отдельных пигментных невусов с помощью ИИ, точность диагностики чуть превышает 80 % [3,4,5]. Сложность проблем идентификации невусов кожи связана с чрезвычайным их многообразием и индивидуальностью мозаик (паттернов), лимитом времени и трудностями их диагностики врачами общей практики. Онкологи не могут стоять за спиной каждого врача, но создать роботизированные комплексы (РК) с нейронными сетями могут.

Нам представляется, что на этапе отработки модели РК популяционного скрининга, прежде всего, невогенных новообразований важно выделить невусоносителей 3-х принципиальных модуляций: 1) с низкой трансформацией; 2) с меланоопаснными невусами (для профилактических мероприятий) и 3) меланоцитарными дисплазиями (нуждающихся в лечении).

Цель исследования. Создание модели выявления факторов онкологического риска и, в частности, меланоцитарных дисплазий и радиальных меланом с применением роботизированного комплекса на этапе первичного звена.

Материалы и методы. На базе созданного нами роботизированного комплекса (РК), осуществляли системный опрос в формате «Да», «Нет» похожих образований, признаков или факторов риска с цветными иллюстрациями на сенсорном экране [8,10,11,13]. При указании пациентом наличия пигментных родинок более 6 мм, склонных к изменению (симптомы АВСДЕ) выполняли фотоснимки с помощью USB микроскопа (увеличением более х 300) с передачей на экран РК. При меланомоопасных невусах дополнительно красили их специальным красителем [**патент на изобретение № 2716811 от 16 марта 2020**], окрашивающего коллагеновые волокна в ярко-красный цвет (в норме в виде ромбов), другие структуры в желтый и другие цвета, которые при меланоме нарушаются [9].



Электронная почта: undefined
Адрес места жительства: undefined

№	Факторы риска	Рекомендации	Пометки
1	Есть **на коже образование**, но не знаю, как оценить.	Осмотр онколога. Хирурга-Соскоб на цитологию	
15	Кто то из **кровных родственников** болеет **сахарным диабетом.**	К эндокринологу.	
15	Кто то из **кровных родственников** болеет **гипертонической болезнью.**	К терепевту.	
15	У **кровных родственников** имеется онкологическое заболевание: **пищевода / желудка. &&** У **кровных родственников** имеется онкологическое заболевание: **другого органа / Не знаю.**	К онкологу	

Рис 1. Фрагмент анкетного опроса и микрофото опухоли кожи на роботизированном комплексе

Моделирование изображений по 3 категориям проводили на основе матрицы основных меланомоопасных дерматоскопических паттернов, описанных в руководствах и рекомендациях [1,6,7] и дополнениями анкетного опроса пациента (фототип кожи 1-2, эволюцией невуса) с присвоением баллов их значимости (табл.1) и коррекцией после апробации. Расчет индекса меланоопасности проводился на РК в автоматизированном режиме по упрощенной формуле:

$$\text{ММИ} = 2\ \frac{\text{P}n}{N\ (10)}\ ,$$ где

ММИ – морфо-микроскопический индекс меланомоопасности,

P n – число установленных паттернов,

N -10 – общее постоянное число основных меланоопасных паттернов

2 – «двойной» коэффициент онконастороженности

При ММИ до 1,0- низкая степень трансформации (доброкачественное образование);

При ММИ более 1,1 – 2,0 - невус с высоким риском трансформации

При ММИ более 2,1 - меланоцитарная дисплазия, меланома.

Программа РК интерпретирует, формулирует риски опасных меланоцитарных новообразований кожи, рекомендации и библиотеку фотоснимков (рис 2) для последующей диспансеризации в динамике, «двойного контроля» и обучение их распознаванию.

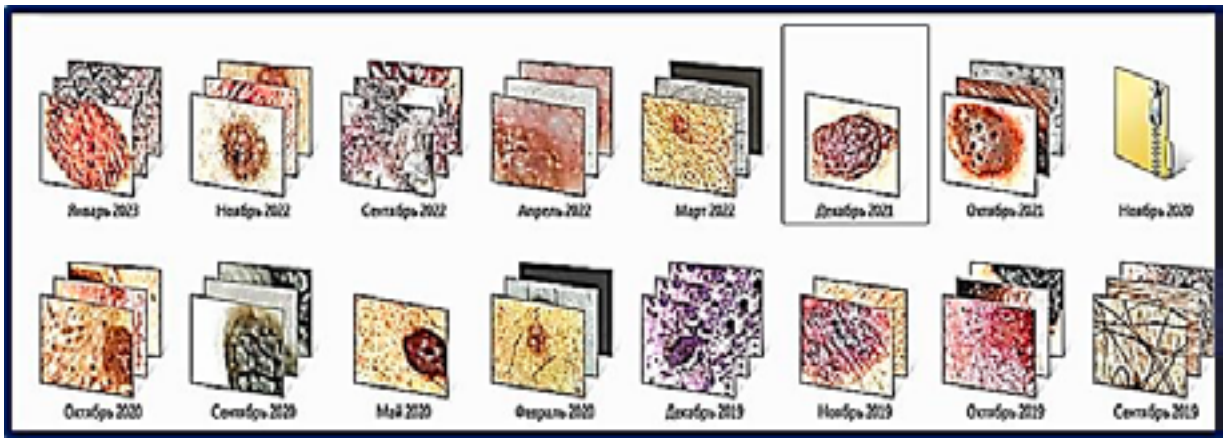


Рис 2. База данных меланоцитарных образований

Результаты. Материалом для автоматизированной обработки и дальнейшего обучения РК послужили 232 фотоснимка и анализа 902 анкет, выполненных на базах поликлиник г.Великий Новгород и Старорусской ЦРБ (24 анкеты пациентов после осмотра с пиогенной гранулемой, гемангиомами и папилломами исключены из выборки, указавших наличие «неспокойных родинок»). Средний возраст пациентов - 54±1,4% (от 27 до 68 лет) в соотношении мужчин и женщин – 1:2,4.

Фото- и хромомикроскопическую диагностику выполняли на платформе РК, позволившем секвестировать 137 пациентов с невусами низкой трансформации, оценить 90 микрофото как меланомоопасные невусы и у 5 пациентов определить их как поверхностные меланомы, требующие неинвазивного дообследования и лечения. Для повышения статистической достоверности тестовой обработки включено 9 поверхностных меланом,

поступивших на оперативное лечение в ГОБУЗ ОКОД и подвергнутых предварительной USB хромомикроскопии.

54 пациента с меланомой и меланоцитарной дисплазией оперированы и морфологически верифицированы (56,8 ±2,18%). Остальные прослежены в течении более 2 лет. Лишь в 1 случае трансформация меланоцитарной дисплазии в меланому при наборе 2,2 балла гистологическим исследованием неподтверждена.

Таблица 1. Результаты клинической и фотомикроскопической диагностики на роботизированном комплексе

Категория невуса	Число случаев	Окончательный клинико-морфологический диагноз	Морфо-микроскопический индекс (ММИ)	Чувствительность (Se)/ специфичность (Sp) Точность (Ac)
С низкой трансформацией	137	Интрадермальный Смешанный Голубой	0,3-1,0 В среднем 0,6±0,13%	
Меланоопасные невусы	90	Пограничный Лентиго Акролентиго Меланоз Дюбрейля	1,1-2,0 В среднем 1,8 ±0,18%	
Меланоцитарная дисплазия Поверхностная меланома	5 9 14	Меланоцитарная дисплазия Меланома in situ Поверхностная меланома	2,1 - 4,7 В среднем 2,9 ±0,19%	Se = 0,93 Sp = 0,98 Ac=93,75%
Всего	232			

В качестве примера приводим расчет ММИ (Рис3):

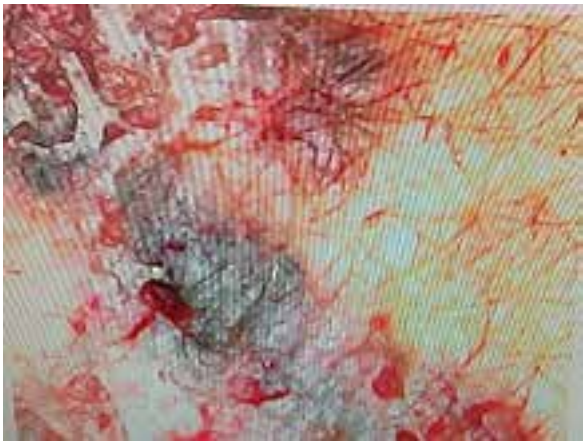


Рис 3. Поверхностная меланома, увел.х 300 (Расчет индекса: асимметрия по обеим осям -5, цвета бежевый, коричневый, красный, черный – 3, серо- голубая вуаль -3, регрессия участка невуса -

3, нарушение ромбовидности – 4, паукообразный ангионеогенез- показан стрелкой-5; Общий ММИ= 4,6).

Оценка статистической значимости теста основных меланоопасных паттернов выполнена по формулам:

Показатель чувствительности $Se = \frac{ИП}{ИП + ЛО} = 0{,}93$

Показатель специфичности $Sp = \frac{ИО}{ИО + ЛП} = 0{,}98$

Точность диагностики $Ac = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \times 100\% = 93{,}75\%$

После моделирования меланоцитарных дисплазий и поверхностных меланом приступили к логистике «обучения с учителем», обработке микроизображений программой, написанной на языке Python с использованием фрэймворка для машинного обучения Tensor-Flow 2.0, требующее дальнейшего накопления материала и поэтапного внедрения в практику.

Обсуждение. Диагностика меланом кожи на уровне радиальной фазы роста остается сложной задачей первичного звена «бережливых поликлиник». Несмотря на рекомендуемые алгоритмы диагностики меланом с помощью дерматоскопа, достоверность их зависит от подготовки врача, требующая «довольно-таки много времени» [14]. Ретроспективный анализ оцифровки микрофотоснимков на РК с применением USB микроскопа, после анкетного опроса пациентов, указавших наличие «неспокойных родинок» показал возможность выявлять невусы с высоким риском трансформации, дисплазий и поверхностных меланом с точностью до 93,75% (Se = 0,93; Sp = 0,98). Организационно-функциональная модель (Рис 4) выявления факторов онкологического риска и, в частности, меланоцитарных дисплазий и меланом с применением серии кабинок с РК (с участием медсестры-консультанта) может стать прорывом «бережливых» поликлиник.

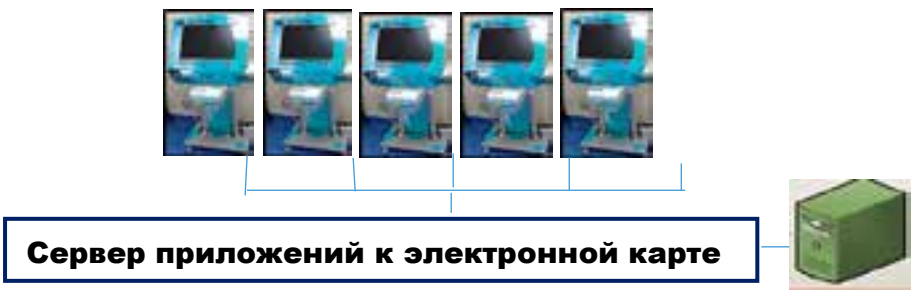


Рис 4. Схема организационно-функциональной модели проведения онкологического скрининга в «бережливых» поликлиниках

Компьютерное обучение нейросенсорных архитектур в приложении РК уже в ближайшее время позволит оптимизировать, выполнять мало затратную USB микроскопию (стоимость микроскопа менее 1,5 тыс. руб., против 70 тыс. руб. стоимости дерматоскопа), повысив эффективность скрининговых обследований потоков населения и большого многообразия паттернов меланоцитарных дисплазий и меланом кожи

Выводы

1.Компьютерно-аппаратный комплекс, сочетающий опрос по системам с иллюстрациями, USB микроскопию (с окрашиванием и без) меланогенных образований, позволяет с меньшими затратами проводить диагностику и эффективное лечение меланоцитарных дисплазий и меланом на этапе горизонтальной фазы роста.

2.Предложенная модель обследования населения позволит поэтапно с позиций клинической практики выделять три группы меланогенных образований кожи: с низкой трансформацией; с меланоопасносными невусами (для профилактических мер) и меланоцитарными дисплазиями и меланомами (требующими лечения), накапливать материал с последующим обучением нейросенсорных архитектур автоматизированной их идентификации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации по меланоме кожи и слизистых оболочек. Ассоц. специалистов по проблемам меланомы "Меланома.ПРО" М. 2022
2. Барчук А.А., Подольский М.Д., Беляев А.М. и др. Автоматизированная диагностика в популяционном скрининге рака легкого // Вопросы онкологии. 2017;63(2):215–22
3. Ляхов П.А. Система нейросетевой классификации пигментных новообразований кожи с предварительным удалением волос на фотографиях // Компьютерная оптика. – 2021 – Т. 45, № 5 – С. 728-735.
4. Хабарова Р.И., Кулева С.А. Искусственный интеллект в диагностике доброкачественных новообразований кожи у пациентов детского возраста. Интеграция нейронной сети в мобильное приложение «Вопросы онкологии», 2022. Том 68, N 6, 820-826
5. Zaqout I.S. An efficient block-based algorithm for hair removal in dermoscopic images / I.S. Zaqout // Компьютерная оптика. 2017 – Т. 41(4). – С.521-527
6. Синельников ИЕ, Барышников КА, Демидов ЛВ: Клиническая диагностика меланом кожи. Вестник ФГБУ «РОНЦ им НН Блохина» 2017, 28(1-2):68-73.
7. Дерматоскопия / Г. Питер Сойер, Джузеппе Аргенциано, Райнер Гофман-Велленгоф, Айрис Залаудек ; пер. с англ. – М. : МЕДпресс-информ, 2014 – 240 с.

8. Черенков В.Г, Пасевич К.Г., Гулков И.В..Роботизированный интеллект в организации доврачебной диагностики риска опухолевых заболеваний // Российский онкологический журнал. 2020. Т. 25. № 2. С. 72-76.

9. «Способ ранней диагностики поверхностно распространяющихся меланом» - Патент на изобретение //авторы Черенков В.Г., Пасевич К.Г., Рисс М.Е., Гулков И.В., Патент на изобретение № 2716811 от 16 марта 2020.

10. Черенков В.Г., Вебер В.Р., Пасевич К.Г., Арендателев И.Г. Применение цифровых технологий в диагностике опухолевых заболеваний на доврачебном этапе//Казанский медицинский журнал. 2021;102(6):946-950.

11.Черенков В.Г, М.Е.Рисс, К.Г.Пасевич. Цифровые технологии диагностики ранних признаков поверхностно-распространяющихся меланом // «Вестник Новгородского государственного университета» № 1 (117), 2020, с.128-131

12. Cherenkov V. G. Pacewicz K. G, Riss M.E. Diagnostics of Early Signs of Surface-Spreading Melanoma Using A Robotic Complex //Journal of Clinical Trials & Research JCTR, 2020, 3(1): 174-179.

13. Черенков В.Г., Пасевич К.Г, Иванов А.А, Рисс М.Е. Микроскопическое выявление ранних признаков поверхностно распространяющихся меланом с применением роботизированного комплекса // 62 Международная конференция (Евразийская научная ассоциация), 29-30 апреля 2020. Сборник научных работ. Москва, 2020, 30-34.

14. JA Avilés-Izquierdo, P. García-Piqueras, C Ciudad-Blanco et al. Do not PASS any melanoma without diagnosis: a new simpliefed dermascopic algorithm//International Dermatology. T 62, 4, 2023, 441-580.

НАУЧНАЯ РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ РОССИЙСКОЙ ПЛАТФОРМЫ АГРЕГАЦИИ ДАННЫХ О ГЕНОМАХ ВИРУСОВ (VGARUS) ДЛЯ ЦЕНТРАЛИЗОВАННОГО АНАЛИЗА ДИНАМИКИ И СТРУКТУРЫ ВЫЯВЛЕННЫХ ГЕНОВАРИАНТОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.А. Самсонов, Д.В. Стратулат, В.Г. Акимкин

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Молекулярно-генетический мониторинг вирусных возбудителей является важным научным направлением в управлении эпидемическим процессом в современных условиях. Молекулярно-генетические исследования позволяют выявлять изменения в геномах вирусов, идентифицировать и классифицировать различные варианты (штаммы), а также оценивать их патогенность и трансмиссионную способность. Эти данные могут быть использованы для разработки новых диагностических наборов и современных вакцин, а также для определения оптимальных стратегий противодействия эпидемиям.

В случае пандемии COVID-19 молекулярно-генетический мониторинг коронавируса стал крайне важным направлением исследований, так как это позволило установить связи между циркулирующими геновариантами вируса и соответствующими метаданными, такими как время и место появления инфекции на определенной территории, возраст и пол пациента, сопутствующие заболевания и т.д. Эта информация позволила лучше понимать факторы риска распространения инфекции и разрабатывать более эффективные меры по ее контролю и предотвращению. При этом постоянное снижение затрат на секвенирование ДНК и увеличение вычислительных мощностей открывают новые возможности для создания и анализа баз данных о геномах вирусов. Эти базы данных могут быть использованы для выявления динамики и масштабов распространения инфекции, оценки влияния демографических и социальных факторов, а также для моделирования и прогнозирования развития эпидемического процесса. Это позволяет разрабатывать более эффективные стратегии борьбы с инфекционными болезнями и улучшать общественное здоровье. Нужно отметить, что ранее никогда не использовались подобные наборы данных, методики и подходы в борьбе с эпидемиями инфекционных заболеваний.

В Российской Федерации, в 2021 году на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 23.03.2021 № 448 "Об утверждении Временного порядка предоставления данных

расшифровки генома возбудителя новой коронавирусной инфекции (COVID-19)"[1], а также дальнейших ПП №2178 от 02.12.2021 г.; №2395 от 23.12.2022 г была разработана и создана (свидетельство о государственной регистрации №2021621178 от 02.06.2021 г.) платформа VGARus с целью агрегирования данных о геномах вирусов SARS-CoV-2, выявленных в Российской Федерации. Платформа позволяет осуществлять централизованный сбор и анализ данных о структуре и динамике выявленных вариантов вируса, что помогает лучше понимать эпидемиологическую ситуацию в стране и принимать эффективные меры по ее контролю.

База данных VGARus была разработана с использованием современных IT-технологий и размещена в сертифицированном и защищенном Центре Обработки Данных. Также в проектировании системы были применены подходы микросервисной архитектуры, что позволяет гибко масштабировать систему в будущем, а также подходы BigData.

BigData позволяет обрабатывать и анализировать огромные объемы данных, которые генерируются в результате секвенирования геномов вирусов. Эта технология позволяет быстро и эффективно обрабатывать данные, что делает возможным проведение более точных и детальных исследований. BigData используется для сбора, хранения и анализа информации о геномах вирусов. Это важно для эффективной работы платформы и обеспечения безопасности данных. Приказом Роспотребнадзора от 9 апреля 2021 г. № 2 160 «О порядке взаимодействия федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, организаций, подведомственных федеральным органам исполнительной власти субъектов Российской Федерации, в рамках которой проводятся молекулярно-генетические исследования вирусов, и федеральных органов исполнительной власти, осуществляющих получение и анализ данных о расшифровке генома возбудителя новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», фактически был образован научный Консорциум, в который вошли научные организации Роспотребнадзора, Министерства Здравоохранения Российской Федерации, ФМБА и других ведомств. На сегодняшний день к системе подключено более 120 организаций, из них 32 проводят секвенирование геномов коронавируса и депонирование последовательностей геномов в базу данных (БД) VGARus для дальнейшего анализа.

В процессе работы все геномные последовательности SARS-CoV-2, полученные в рамках регулярного эпидемиологического мониторинга новой коронавирусной инфекции, загружаются в базу данных VGARus. Каждый образец в системе, помимо технической

[1] Постановление Правительства Российской Федерации № 448 от 23.03.2021
URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202103260011

информации, информации о самой геномной последовательности, имеет данные о месте и времени взятия биоматериала, а также дополнительную метаинформацию (регион, возраст, вакцинация, предположительное число контактов, сопутствующие заболевания, поездки за границу перед заболеванием), которая представляет эпидемиологическую значимость и используется для дальнейших исследований. Встроенные алгоритмы в автоматическом режиме проводят анализ мутаций и идентификацию варианта SARS-CoV-2 в каждом из образцов. После загрузки нуклеотидной последовательности вируса система автоматически запускает процесс валидации (т.е. проверки на качество) последовательности, анализ принадлежности к тому или иному варианту вируса. Для анализа полных геномов применяется открытый и используемый мировым научным сообществом инструмент Pangolin[2]. Для анализа фрагментных нуклеотидных последовательностей (участки или ген S-белка вируса целиком) применяется собственное биоинформатическое средство анализа данных PARuS (государственная регистрация №2022612845). Необходимость последнего вызвана тем, что для фрагментного (таргетного) секвенирования, когда прочитывается лишь часть генома патогена, выявление варианта вируса существующими средствами (такими как Pangolin) затруднено. Разнообразие вариантов SARS-CoV-2 обусловлено уникальными комбинациями мутаций. Большая часть из них (и самая значимая с точки зрения детерминации штамма) находится в гене S-белка вируса. Тем не менее, с появлением новых штаммов осуществлять стратификацию только по области S-гена становится все сложнее: совпадающие ключевые мутации на целевых участках и отличные мутации на непокрытых участках приводят к конфликтующим и неопределенным результатам[3]. Таким образом, специалистами-биоинформатиками ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора был доработан и создан новый алгоритм V-TRACE для выявления мутаций и отображения их принадлежности к новым эпидемиологически значимым вариантам. V-TRACE периодически дорабатывается в связи с появлением новых штаммов и мутаций.

Как итог, научные результаты Национальной базы данных VGARus позволяют проводить анализ не только ретроспективно для объяснения причин развития пандемии в Российской Федерации, но и служат для оперативного прогнозирования эпидемиологической ситуации на ближайшие месяцы, что позволяет государственным органам и организациям Роспотребнадзора и иных ведомств. Таким образом, разработка и реализация Российской

[2] Платформа Pangolin URL: https://cov-lineages.org

[3] Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences URL: https://doi.org/10.1186/s12864-022-08358-2

национальной базы данных геномных последовательностей возбудителя новой коронавирусной инфекции (VGARus) явилась не только шагом в реализации программы импортозамещения в области IT-технологий, но и важным инструментом для обеспечения эпидемиологического благополучия и биобезопасности страны. Благодаря введению в эксплуатацию VGARus удалось достичь значимых практических результатов, в том числе значительно сократить время между забором биоматериала и получением результата секвенирования. Множество лабораторий по всей стране осуществляют загрузку геномных данных, анализ выполняется централизованно и единообразно по всем доступным данным, с возможностью оперативной выгрузки результатов, позволяющих прогнозировать эпидемиологическую обстановку. Объем накопленных геномных последовательностей SARS-CoV-2 превысил 310 тысяч по состоянию на январь 2024 г., включая около 198 тысяч полных геномов вируса. Таким образом, фактически БД VGARus представляет собой классический пример «Big Data», и является крупнейшей в РФ базой данных в области генетических исследований возбудителей инфекционных заболеваний, служащей для целей санитарно-эпидемиологического надзора в стране. Важно, что объем данных в VGARus в несколько раз превышает количество геномных последовательностей в «российском» разделе международной БД GISAID (т.е. тех, у которых в качестве места забора указана Российская Федерация), и кроме того, в отличие от данных в последней, VGARus содержит также и большой объем значимых метаданных.

В настоящее время проводится активная работа по расширению портала VGARus как полноценного ресурса для загрузки и анализа геномных данных значимых возбудителей вирусных, бактериальных и паразитарных заболеваний, а также получения эпидемиологической информации. Информация о результатах расшифровки генома возбудителя инфекционных заболеваний будет сопровождаться сведениями санитарно-эпидемиологического характера, что выгодно отличает VGARus от “традиционных” баз данных геномной информации. Уже реализованы разделы для депонирования геномов следующих патогенов: Грипп A, B; Гепатит A, B, C, D; Корь; Норовирус, Цитомегаловирус, Энтеровирус A, B, C, D; Ветряная оспа; Пневмония, Гепатит и т.д.

По существу, вышеуказанного использование современных технологий позволило создать высокоэффективную и надежную Платформу VGARus, которая стала одной из самых передовых в области эпидемиологии и здравоохранения. Благодаря передовым технологиям VGARus позволяет быстро и точно анализировать данные о геномах вирусов, что позволяет оперативно реагировать на изменения в эпидемиологической обстановке и принимать меры по предотвращению распространения инфекций.

МЕСТО ДИСТАНЦИОННОГО НАБЛЮДЕНИЯ БЕРЕМЕННЫХ В СНИЖЕНИИ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И СМЕРТНОСТИ

Д.С. Спиридонов, к.м.н.

Кафедра акушерства и гинекологии имени академика Г.М. Савельевой педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Термин «телемедицина» в научных публикациях впервые использован в 1970 году. Работа K.T. Bird была посвящена описанию технологии беспроводной передачи рентгенограмм для дистанционного анализа, а также точности оценки такого анализа [1].

Контроль за состоянием плода в акушерстве применяется по меньшей мере с 80-х годов XX века. Одной из наиболее распространенных и изученных методик является технология записи частоты сердечных сокращений (ЧСС) плода с использованием ультразвукового датчика (кардиотокография / КТГ) [2]. Методика этого инструментального метода диагностики претерпела изменение со временем: уточнялись показания для её выполнения, разрабатывались обновленные клинические рекомендации. Значительным прорывом стала разработка датчиков с возможностью для пациентки их использования вне лечебного учреждения [3].

Место телемедицинских технологий в акушерстве и гинекологии начали активно обсуждать во время пандемии COVID-19. Причиной тому, в частности, стал резкий рост частоты использования дистанционных консультаций. Если до COVID-19 они составляли 1,1% первичной медицинской помощи в США, то во время эпидемии коронавируса, в 2020 году, этот показатель достиг 35,3% [4]. В тоже время в Российской Федерации возможности для развития телемедицины были созданы не за долго до этого, в 2017 году, когда был принят соответствующий закон о применении информационных технологий в сфере охраны здоровья [5].

В связи с этим особую актуальность приобретает вопрос о месте дистанционного наблюдения беременных в снижении перинатальной заболеваемости и смертности.

Материалы и методы

Выполнено сплошное ретроспективное исследование 70643 записей КТГ, переданных беременными из дома в течение мая 2021 – октября 2023 года.

Запись КТГ проводилась с использованием российской системы дистанционного кардиотокографического мониторирования "ФМП", имеющей регистрационное удостоверение на медицинское изделие (РЗН 2020/10882 от 19 июня 2020). Проверку осуществляли лечащие врачи пациенток, акушеры-гинекологи Группы компаний «Мать и дитя» (генеральный директор — Курцер М.А., академик РАН). Для оценки использовалась балльная шкала, предложенная W. Fischer и соавт. (1976 г.). Обследование пациенток в стационаре выполнялось в соответствии с

Приказом Минздрава России от 20.10.2020 № 1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология».

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Использовались методы описательной статистики: анализ проводился при помощи программного пакета IBM SPSS Statistics 23,0 (США). Статистические данные представлены в виде процента (%) в структуре каждого из исследуемых показателей. Критерий хи-квадрат Пирсона использовался для сравнения двух относительных качественных показателей, характеризующих частоту определенного признака, имеющего два значения. Статистически значимыми считались данные при $p<0,05$.

Результаты

Проанализированы 70643 КТГ, переданные 4531 беременными. Из всех КТГ оценка 8-10 баллов (отсутствие гипоксии у плода) была присвоена 65562 (92,8%) записям, 5-7 баллов (начальные признаки гипоксии) – 4804 (6,8%); 4 балла и менее (выраженные признаки гипоксии) – 277 (0,4%). Всем 277 (6,2%) пациенткам, от которых были получены неудовлетворительные результаты КТГ, рекомендовалось обратиться в экстренном порядке в приемное отделение родовспомогательного учреждения для оценки состояния плода с использованием полноценного ультразвукового исследования. Средний срок гестации на момент обращения в стационар составлял 34-40 недель.

Все пациентки последовали рекомендации врача и обратились в стационар. В результате комплексного очного осмотра, включавшего запись КТГ и ультразвуковое допплеровское исследование, у 93 (32,9%) не было выявлено показаний для госпитализации. Пациентки были отпущены домой для продолжения амбулаторного наблюдения. У 184 (67,1%) в приемном отделении определены различные показания для госпитализации. Чаще всего – нарушение гемодинамики в средней мозговой артерии плода или изменение маточно-плацентарного кровотока.

Проанализирован срок пролонгирования беременности и способ родоразрешения 277 пациенток, вошедших в исследование. Так среди 93 пациенток, не нуждавшихся в стационарной помощи, у 32 (34,4%) произошли срочные роды через естественные родовые пути, 28 (30,1%) выполнено плановое кесарево сечение, 24 (25,8%) – экстренное по причинам со стороны матери (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тяжелая преэклампсия), 9 (9,7%) – со стороны плода (дистресс плода, хориоамнионит). У перечисленных пациенток промежуток от момента обращения в приемное отделение в связи с неудовлетворительными показателями состояния плода по данным КТГ до родоразрешения составил 4-5 недель.

Из числа 184 экстренно госпитализированных пациенток у 92 (50,0%) развилась родовая деятельность и произошли роды через естественные родовые пути, 24 (13,0%) выполнено плановое кесарево сечение, 56 (30,4%) – экстренное по причинам со стороны плода (дистресс

плода), 12 (6,6%) – экстренное по причинам со стороны матери (наличие несостоятельного рубца на матке, тяжелая преэклампсия, клинически узкий таз, упорная слабость родовой деятельности). Промежуток от госпитализации до родоразрешения составил менее 1-2 недели.

При анализе состояния новорожденных у пациенток с отсутствием экстренных показаний к госпитализации выявлено, что среди 93 пациенток, кому стационарная помощь в связи с неудовлетворительными показателями состояния плода по данным КТГ не требовалась, большинство детей (81 – 87,1%) были переведены в физиологическое отделение. Отклонений от нормального течения периода новорожденности у них отмечено не было. В связи с признаками задержки роста плода и/или дыхательной недостаточности 12 (12,9%) – госпитализированы в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных.

У 184 пациенток, госпитализированных в родильный дом в связи с подтвердившимся признаками гипоксии плода по данным ультразвукового исследования в стационаре, отмечены следующие исходы со стороны новорожденных: 144 (78,3%) были переведены в физиологическое отделение, 40 (21,7%) – в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных по различным причинам (задержка роста плода, гемолитическая болезнь, признаки аспирации меконием, асфиксия).

Обсуждение

Полученные в ходе исследования данные о не целесообразности госпитализации 93 (32,9%) беременных, у которых в амбулаторных условиях была получена запись КТГ с низкой оценкой (4 балла и менее – выраженные признаки гипоксии) повторяет сформулированное специалистами Национальной службы здравоохранения Великобритании (NHS) утверждение о том, что интерпретация изменений на КТГ должна проводиться только с учетом особенностей течения беременности, а также иных методов комплексного обследования пациентки и плода, включая инструментальные [6]. В тоже время относительно высокая частота выявления подобных патологических КТГ отражает необходимость поиска новых, более совершенных подходов к интерпретации паттернов сердечной деятельности плода. Одним из перспективных вариантов является изучение не отдельных КТГ, а их серий, полученных от одной пациентки, подобно общепринятому подходу к оценке ЭКГ.

В тоже время из числа беременных, у кого при инструментальном обследовании в приемном отделении родильного дома показания для госпитализации подтвердились, экстренное родоразрешение по причинам со стороны плода проводилось в 3,1 раза чаще [9 (9,7%) Vs 56 (30,4%), $p<0,05$]. Структура соответствующих причин (задержка роста плода, хроническая гипоксия плода) подтверждает целесообразность амбулаторного использования КТГ-датчиков у пациенток группы высокого риска плаценто-ассоциированных осложнений.

Сформулированное выше утверждение можно дополнить результатами ближайших исходов детей, а именно частотой их госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных. Дети матерей, у кого при обращении в приемное отделение подтвердилось неудовлетворительное состояние плода, находились на лечении в ОРИТН в 1,7 раза чаще [12 (12,9%) Vs 40 (21,7%), p>0,05]. В тоже время задержка роста плода была основной причиной госпитализации в обеих группах и её частота статистически значимо не различалась, а значит даже сам факт наличия подобной патологии со стороны плода является основанием для более тщательного наблюдения за такими пациентками группы высокого риска, вне зависимости от результатов отдельных записей КТГ.

Выводы

1) Благодаря использованию дистанционной кардиографии удалось своевременно выявить критическое состояние плода у 56 (1,2%) пациенток. Своевременная госпитализация и родоразрешение позволили предотвратить потенциальную перинатальную смертность.

2) Применение дистанционной кардиографии целесообразно в группе беременных высокого риска развития плаценто-ассоциированных осложнений.

3) Требуется разработка домашних диагностических комплексов, способных по совокупности показателей состояния здоровья матери и плода производить более точный анализ степени текущей декомпенсации плода и прогноза ухудшения его состояния в дальнейшем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владзимирский А.В. Медицина в эпоху интернета / Эксмо - М., 2020. - 288 с.
2. ACOG practice bulletin. Antepartum fetal surveillance. Number 9, October 1999 (replaces Technical Bulletin Number 188, January 1994). Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists // Int J Gynaecol Obstet. - 2000. - Vol. 68, N 2. - P.175-85.
3. Hod M., Kerner R. Telemedicine for antenatal surveillance of high-risk pregnancies with ambulatory and home fetal heart rate monitoring--an update // J Perinat Med. - 2003. - Vol. 31, N 3. - P. 195-200. doi: 10.1515/JPM.2003.026.
4. Alexander G.C., Tajanlangit M., Heyward J., Mansour O. et al. Use and content of primary care office-based vs telemedicine care visits during the COVID-19 pandemic in the US // JAMA Netw. Open. - 2020. - Vol. 3, N 10. - P. e2021476. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.21476.
5. Федеральный закон от 29.07.2017 г. № 242-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросам применения информационных технологий в сфере охраны здоровья». - URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201707300032 (дата обращения 2024-01-29).
6. Ashford and St. Peter's Hospitals. Antenatal Cardiotocography Guideline / National Health Service Foundation Trust - GB., 2020, - 18 p. URL: https://ashfordstpeters.net/Guidelines_Maternity/Antenatal%20CTG%20Guideline%20May%202020.pdf (дата обращения 2024-01-29).

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫХ КОМАНД ПЕРВИЧНОГО ЗВЕНА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА

А.С. Тимофеева[1], Ю.В. Бурковская[2]

[1] ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы», ул. Шарикоподшипниковская, д. 9, г. Москва, 115088, Россия

[2] ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы», ул. Шарикоподшипниковская, д. 9, г. Москва, 115088, Россия

Без развития первичной медико-санитарной помощи (ПМСП) формирование эффективных систем здравоохранения в настоящее время невозможно. ПМСП обеспечивает непрерывную, всеобъемлющую и скоординированную помощь на уровне сообществ [1-3].

Хронические неинфекционные заболевания (ХНИЗ) являются актуальной проблемой здравоохранения во всем мире. Кроме того, ограниченное финансирование и кадровый дефицит в ПМСП требуют новых организационных моделей и трансформации системы. Решение подобных вопросов заключается во внедрении мультидисциплинарных команд, в которых медицинские специалисты взаимодействуют друг с другом для оказания комплексной и скоординированной, медицинской помощи, ориентированной на пациента. Мультидисциплинарная модель необходима для обеспечения координации оказываемой ПМСП, адаптированной к потребностям населения [4].

В зарубежных системах оказания ПМСП функционирующие модели команд различаются по составу и по профилю оказываемой ПМСП. В командах неотъемлемой частью являются помощники врача, психологи и клинические фармакологи и т. д. В мультидисциплинарных командах также работают специалисты без медицинского образования: социальные работники и медицинские регистраторы.

Анализ международных практик по формированию мультидисциплинарных команд специалистов в первичном звене здравоохранения позволил рассмотреть изменения, происходящие в зарубежных системах здравоохранения. Каждая из стран имеет свои уникальные особенности. Результат исследований с вкладом авторов отражен в экспертных обзорах и научных статьях уровней РИНЦ и ВАК [5-7].

Основным звеном в мультидисциплинарной команде становится врач общей практики (ВОП), функционал которого является самым широким. ВОП — главный координатор процесса лечения, включая коммуникацию. Не менее важная роль отдается среднему медицинскому персоналу. На современном этапе, когда цифровизация и технологии внедрены в большинство

процессов поликлиники, медицинская сестра становится одним из ключевых звеньев команды, поскольку может взять на себя часть врачебных функций.

Понимая, что организация качественной и доступной амбулаторной медицинской помощи возможна только в условиях работы мультидисциплинарных команд, был разработан пилотный проект по организации командной работы в амбулатории в ТинАО [8].

На примере ведения пациентов с ХНИЗ, построена предлагаемая модель мультидисциплинарной команды, в основу которой лег принцип проактивного диспансерного динамического наблюдения (ПДДН), регламентированный Приказом Департамента здравоохранения города Москвы № 1230 «О системе проведения проактивного диспансерного динамического наблюдения пациентов в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы».

В связи с Приказом Минздравсоцразвития России от 23.07.2010 N 541н (ред. От 09.04.2018) «Об утверждении Единого квалификационного справочника должностей руководителей, специалистов и служащих, раздел «Квалификационные характеристики должностей работников в сфере здравоохранения» (Зарегистрировано в Минюсте России 25.08.2010 N 18247), в котором у ВОП спектр функциональных обязанностей шире, чем у врача-терапевта участкового, в команде координатором процесса становится ВОП.

Согласно вышеупомянутому Приказу № 1230, в рамках ПДДН регламентированы и функциональные обязанности помощников врача. К профессиональной деятельности допускаются медицинские сестры, имеющие действующий сертификат или свидетельство об аккредитации по специальности «сестринское дело» или «общая практика», а также важен опыт работы в медицинской организации. Таким образом медицинской сестре в модели работы мульдисциплинарной команды отводится важная роль.

У ВОПа есть возможность дистанционно проконсультироваться с врачом-специалистом. Заочные консультации формата «врач-врач» можно проводить на унифицированной платформе в системе ЕМИАС. Дистанционные консультации пациентов обеспечивает мобильное приложение для телемедицинских консультаций формата «врач-пациент». Благодаря телемедицинским технологиям у пациента нет необходимости прихода в поликлинику, что в свою очередь способствует экономии времени врача и пациента, не снижая качества, оказываемой населению медицинской помощи.

Роль координатора процесса принадлежит ВОП. Медицинская сестра (или помощник врача) сопровождает пациента на всех этапах процесса (рис. 1, 2).

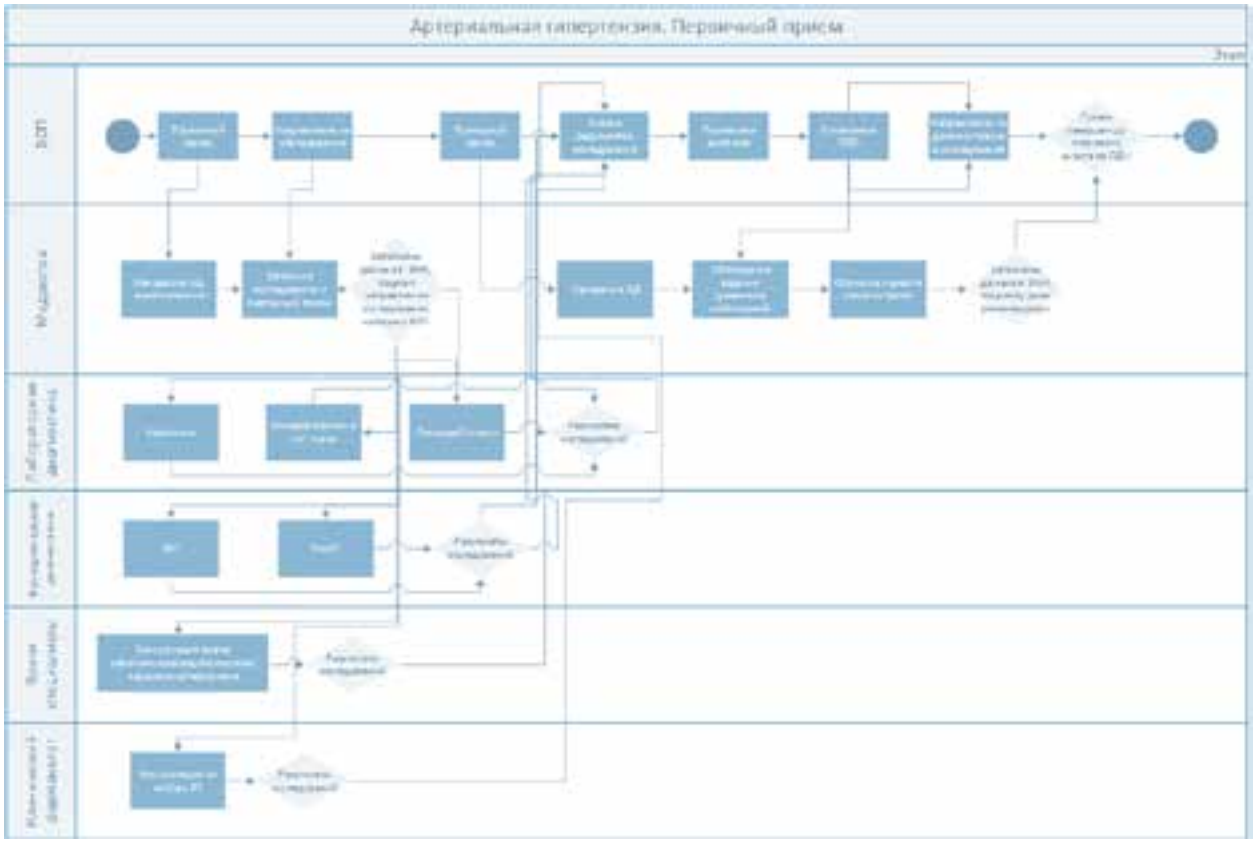


Рисунок 1. Процесс маршрутизации пациента при первичном посещении ВОП (без установленного диагноза, на примере ведения пациента с артериальной гипертензией) [9]

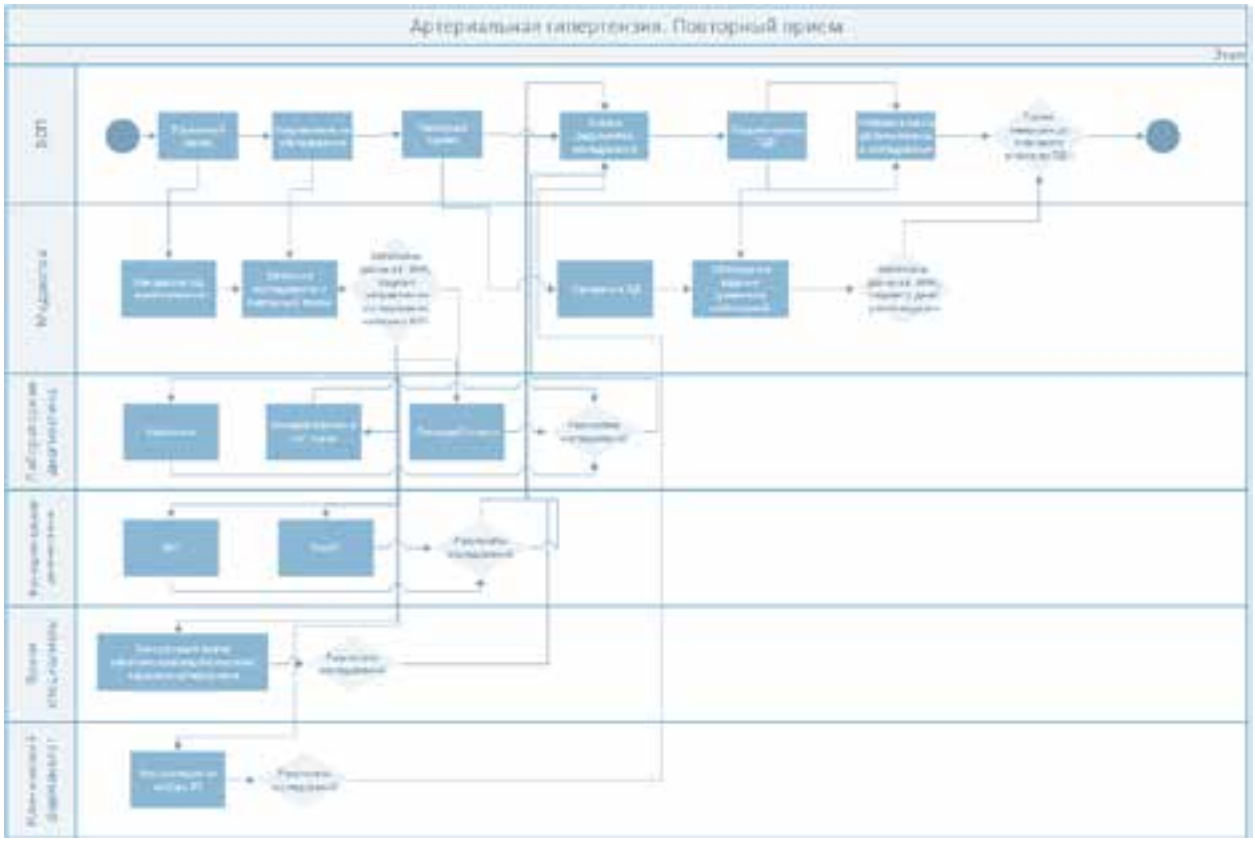


Рисунок 2. Процесс маршрутизации пациента при повторном посещении ВОП (с установленным диагнозом, на примере ведения пациента с артериальной гипертензией) [9]

Взаимодействие между участниками мультидисциплинарной команды оптимизировано: врачебный консилиум ВОП и врачей-специалистов может проводиться дистанционно с помощью телемедицинских технологий. Количество обращений пациента к ВОП сокращено. Пациенту достаточно обратиться к ВОП один раз при первичном посещении, а повторный прием проводится в дистанционном формате (табл. 1) [9].

Таблица 1. Алгоритм работы команды при первичном приеме пациента с артериальной гипертензией (без установленного диагноза) [9]

Этап оказания медицинской помощи (при артериальной гипертензии)	ВОП	Медицинская сестра	Лабораторная диагностика	Инструментальная диагностика	Врачи-специалисты	Клинический фармаколог
Первичный прием, доврачебный прием: м/с осуществляет амбулаторный доврачебный прием, проводит антропометрию, измеряет артериальное давление, заполняет ЭМК пациента. ВОП проводит осмотр и оценивает данные физического исследования пациента, составляет план лабораторного, инструментального обследования, направляет на исследования; м/с записывает пациента на исследования (Приказы №1230, № 543н)	●	●				
Дистанционная координация (телефонные коммуникации, ЭМК, чат-бот): м/с координирует маршрутизацию пациента (Приказ № 1230)		○				
Прохождение пациентом лабораторных исследований: креатинин, микроальбумин в суточной моче, липидный спектр (Приказ № 1230)			●			
Прохождение пациентом инструментальных исследований: ЭКГ, ЭхоКГ (Приказ № 1230)				●		
Интерпретация полученных результатов исследований: ВОП интерпретирует результаты лабораторных анализов; результаты функциональной диагностики; при необходимости обращается за консультацией к врачам-специалистам (Приказ № 1230)	○					
Консультация специалистов: консультация пациента и ВОП врачом-офтальмологом/эндокринологом/кардиологом/нефрологом (Приказ № 1230)					●	
Дистанционная координация (телефонные коммуникации, чат-бот): м/с информирует пациента дистанционно об изменениях в ЭМК (Приказ № 1230)		○				
Консультирование специалистов и ВОП: консультирует врачей-специалистов и ВОП по вопросам выбора и применения лекарственных препаратов, согласует план лечения (Приказ №477н (ПС))						○
Составление ПДН: во время повторного приема пациента ПДН формируется после взятия на диспансерное наблюдение пациентов с впервые установленным подтвержденным диагнозом и при согласии на участие в проактивном диспансерном динамическом наблюдении, ПДН должна быть составлена в течение одного рабочего дня после постановки на диспансерное наблюдение (Приказ № 1230)	○					
Повторный прием пациента (ЭМК, чат-бот, телемедицина): ВОП дистанционно консультирует пациента, контролирует реализацию программы диспансерного наблюдения; м/с дистанционно обсуждает с пациентом ведение дневников наблюдений, обучает пациента самоконтролю (Приказы № 541 н, № 543н, № 1230)	○	○				
Дистанционная координация (телефонные коммуникации, ЭМК, чат-бот, телемедицина): координация маршрутизации пациента после повторного приема		○				

● — очное присутствие пациента
○ — очное присутствие пациента не требуется

Пилотный проект осуществляется в детско-взрослой поликлинике ГБУЗ «Больница “Кузнечики” Департамента здравоохранения города Москвы» амбулатория Курилово (Филиал).

В ходе реализации проекта (с учетом вклада авторов):

- предложена модель мультидисциплинарной команды;
- осуществлен запуск мультидисциплинарного подхода (Москва, п. Щаповское, дер. Курилово, ул. Центральная, 2Б);
- составлен алгоритм работы мультидисциплинарной команды;
- подготовлены критерии привлечения узких специалистов, квалификационные требования для среднего медицинского персонала и предложения по функционалу;
- разработаны методические рекомендации по работе мультидисциплинарной команды: «Модели работы мультидисциплинарной команды по ведению пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями в условиях поликлиники»;
- предложена модель врачебного консилиума, телемедицинской консультации форматов «врач-врач» и «врач-пациент».

ЛИТЕРАТУРА

1. Wolters R. J., Braspenning J. C. C., Wensing M. Impact of primary care on hospital admission rates for diabetes patients: A systematic review. Diabetes Res Clin Pract. 2017 Jul; 129:182-196. doi: 10.1016/j.diabres.2017.05.001. Epub 2017 May 10.
2. Sung N. J., Choi Y. J., Lee J. H. Primary Care Comprehensiveness Can Reduce Emergency Department Visits and Hospitalization in People with Hypertension in South Korea. Int J Environ Res Public Health. 2018 Feb 5;15 (2):272. doi: 10.3390/ijerph15020272.
3. Van den Berg M. J., van Loenen T., Westert G. P. Accessible and continuous primary care may help reduce rates of emergency department use. An international survey in 34 countries. Fam Pract. 2016 Feb;33 (1):42-50. doi: 10.1093/fampra/cmv082. Epub 2015 Oct 28.
4. Auraaen A. L. Slawomirski and N. Klazinga (2018). The economics of patient safety in primary and ambulatory care: Flying blind, OECD Health Working Papers, No. 106, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/baf425ad-en.
5. Тимофеева, А. С. Организация командной работы в первичном звене: зарубежный опыт: Экспертный обзор / А. С. Тимофеева, Ю. В. Бурковская. – Москва: Государственное бюджетное учреждение города Москвы "Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы", 2023. – 47 с.

6. Модели оказания первичной медико-санитарной помощи: зарубежный опыт: экспертный обзор / Е. И. Аксенова, В. Э. Андрусов, Ю. В. Бурковская [и др.]. – Москва: Государственное бюджетное учреждение города Москвы "Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы", 2022. – 48 с.
7. Организация работы междисциплинарных команд в первичном звене здравоохранения: зарубежный опыт: Экспертный обзор / Е. И. Аксенова, Ю. В. Бурковская, Н. А. Гречушкина [и др.]. – Москва: Государственное бюджетное учреждение города Москвы "Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы", 2022. – 44 с.
8. Аксенова, Е. И. Организация работы междисциплинарных команд в первичном звене здравоохранения / Е. И. Аксенова // Московская медицина. – 2023. – № 1(53). – С. 34-41.
9. Модели работы мультидисциплинарной команды по ведению пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями в условиях поликлиники: Методические рекомендации. – Москва: Государственное бюджетное учреждение города Москвы "Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы", 2023. – 104 с.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку: Тимофеева Алена Сергеевна [Alena S. Timofeeva]; адрес: Россия, 115088, Москва, ул. Шарикоподшипниковская, д. 9 [address: Sharikopodshipnikovskaya str., 9, 115088 Moscow, Russia]; телефон: 8 916-043-63-98; ORCID: 0009-0008-5581-3814; eLibrary SPIN: 8631-9344; e-mail: TimofeevaAS2@zdrav.mos.ru

Бурковская Юлия Валерьевна [Yuliya V. Burkovskaya]; адрес: Россия, 115088, Москва, ул. Шарикоподшипниковская, д. 9 [address: Sharikopodshipnikovskaya str., 9, 115088 Moscow, Russia]; телефон: 8 (495) 697-12-02 (доб.610); ORCID: 0000-0002-7620-0207.; eLibrary SPIN: 7671-9053; e-mail: BurkovskayaYV@zdrav.mos.ru

ГЕРИАТРИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ПАЦИЕНТАМ КАБИНЕТА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПОЛИКЛИНИКЕ

Д.О. Угарин

Кафедра терапии, гериатрии и антивозрастной медицины академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

Введение. Инфекционные болезни являются актуальной проблемой мирового здравоохранения в связи с их распространенностью, угрозой для здоровья общества и ранней смертностью. В России ежегодно регистрируется около 40–50 млн. случаев инфекционных болезней, что составляет более 1/3 в общей заболеваемости населения [Кравченко И.Э и др., 2022]. Смерть от инфекционных болезней является первой причиной преждевременной смертности населения. В РФ в структуре смертности инфекционные и паразитарные болезни занимают 6-е место (2015 г. – 23,5 на 100 тыс. населения; 2016 г. – 24,1; 2017 г. – 23,5) [Кравченко И.Э и др., 2022]. В пожилом возрасте увеличивается тенденция к снижению общей резистентности организма, появлению коморбидности, гиподинамии, снижения когнитивных функций, наличия сложностей в самообслуживании и общей дезадаптации в обществе. В связи с этим вопрос значимости своевременной профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний у пациентов старше 65 лет стоит наиболее остро. [2,3.5]. Одним из самых распространенных инфекционных заболеваний у пожилых пациентов является рожистое воспаление[1]. По распространенности рожа занимает 4 место в структуре инфекционной заболеваемости после ОРВИ, кишечных инфекций, гепатитов. В структуре хирургических заболеваний на долю рожистого воспаления приходится от 7 до 11%.

Цель исследования: обосновать гериатрические особенности профилактики инфекционных заболеваний у пациентов старше 65 лет, на примере рожистого воспаления.

Новизна исследования. В перспективе, на основе проводимого исследования, будет предложен и обоснован план профилактики инфекционной заболеваемости на основе комплексной гериатрической оценки у пациентов старше 65 лет на амбулаторном приеме врача-инфекциониста. Предполагается, что данный подход приведет к снижению обращаемости пожилых пациентов в кабинет инфекционных заболеваний, уменьшит частоту вызовов СМП, госпитализаций в стационары и улучшит качество жизни пациентов старше 65 лет.

Материалы и методы. В апреле 2023 года проведен анализ структуры обращаемости в КИЗ ГП 134 ДЗМ. Всего на амбулаторный прием за указанный период обратилось 421 человек, из них пациентов старше 65 лет – 168 человек (~42%).

Результаты. У пациентов младше 65 лет (всего осмотрено 253 человека), за указанный период не выявлено ни одного случая опоясывающего герпеса, рожистое воспаление

зарегистрировано всего у 2 человек первично, а рецидивирующее - у 5 человек. Значимый вклад в обращаемость у пациентов младше 65 лет внесли: активные гепатиты В и С минимальной, слабой, умеренной и высокой активности - в сумме у 102 человек (~40%), субфебрилитет неуточненной этиологии - 64 человека (25%), а также первичное инфицирование и рецидивы ЭБВ и ЦМВ инфекций в общей сумме – 17 человек (6,7%) обращений. Структура обращаемости в кабинет инфекционных заболеваний у пациентов старше 65 лет, отличалась от таковой у пациентов более младшего возраста. На первый план у пациентов старше 65 лет вышли рецидивы бактериальных заболеваний (рожистое воспаление) (абс.– 42 человека, 25 %), либо повторная активизация латентных инфекций, чаще всего герпесвирусной этиологии (абс. 19 человек, 11,3 %). В то же время, некоторые инфекционные заболевания имеют тенденцию к снижению активности в пожилом возрасте (гепатиты вирусной этиологии) (абс. 17 человек, 10,1 %), что сочетается с данными других авторов [B.Vellas, 2022]. Для наглядности распространенность инфекционных заболеваний в разных возрастных группах изображена на графике. Для инфекционных заболеваний в пожилом возрасте были характерны определенные особенности: затяжное течение, в сравнении с более молодыми пациентами, у многих пациентов старше 65 лет наблюдались полипрагмазия и различные функциональные расстройства. В большинстве случаев рецидивов рожистого воспаления у 33 из 37 пациентов старшего возраста отмечались такие хронические заболевания как сахарный диабет, хроническая венозная недостаточность, различные заболевания сердечно-сосудистой системы. У 7 пациентов отмечалось когнитивное снижение, трудности при передвижении отмечались у 28 пациентов, ожирение у 15 пациентов. Оценка когнитивного статуса пациентов проводилась по тесту Мини-Ког, также проводилась оценка на вероятность падений по шкале Морзе, использовался опросник качества жизни EQ-5D. По данным опроса пациентов и анализа данных амбулаторных карт пожилых пациентов, обращавшихся за указанный период на амбулаторный прием врача инфекциониста, удалось выяснить, что оценка гериатрического статуса у пожилых пациентов проводится в недостаточном объеме, некоторые гериатрические синдромы не корректируются должным образом и нередко не распознаются на ранних этапах. У 15 пациентов с рецидивами рожистого воспаления нижних конечностей, отмечался как минимум 1 эпизод спонтанных падений за последние 6 месяцев перед проведением анализа данных по обращаемости на прием. Около 15% пациентов старше 65 лет с рецидивирующим рожистым воспалением отмечали, что периодически забывали принимать антибактериальные препараты в определенное время дня, а около 7% пациентов по данной нозологии отмечали трудности в проведении необходимых гигиенических процедур, важных для предотвращения рецидивов рожистого воспаления, в виду частичной утраты способности к самообслуживанию. В то же время у пожилых пациентов нередко отмечались увеличение продолжительности инфекционных заболеваний, на фоне не

всегда ярко выраженного воспалительного ответа. По всей видимости данные изменения связаны с возрастными изменениями иммунной системы. Известно, что у пациентов старше 65 лет происходит инволюция вилочковой железы, что снижает активность Т-клеточного звена иммунитета, снижается синтез IgA, обеспечивающего местную защиту слизистых и кожи, а также снижением пролиферации некоторых популяций иммунных клеток, в виду снижения общего регенераторного резерва организма.

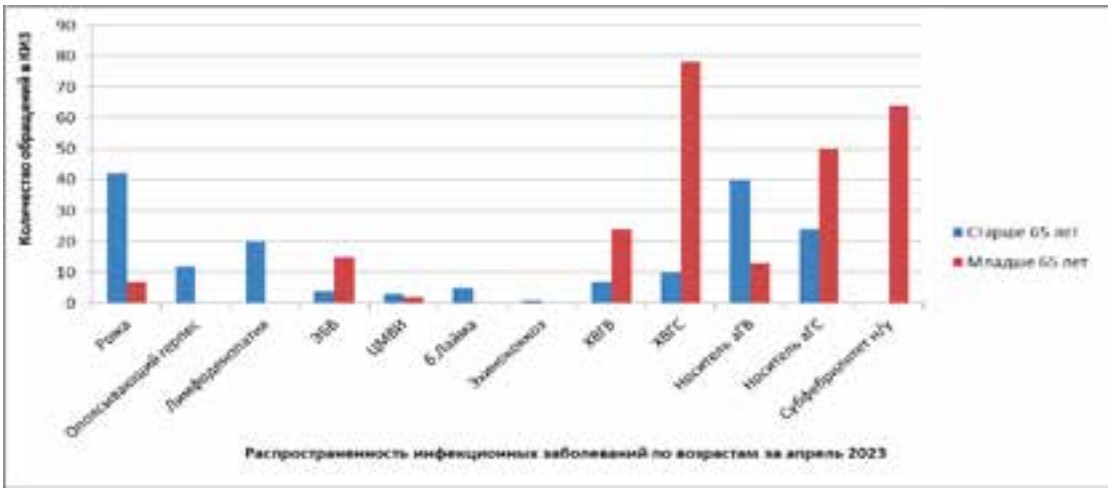


График распространенности инфекционных заболеваний у пациентов младше и старше 65 лет.

Выводы. Структура инфекционной заболеваемости пациентов старше 65 лет отличатся от таковой у пациентов более младшего возраста. Инфекционные заболевания нередко встречаются в пожилом возрасте, одним из самых часто встречающихся заболеваний является рожистое воспаление нижних конечностей. Ряд гериатрических синдромов может способствовать возникновению и рецидиву некоторых инфекционных заболеваний

Выявление и ранняя коррекция гериатрических синдромов может помочь снизить риск рецидивов инфекционной заболеваемости первично (коррекция нутритивного статуса, рациональный двигательный режим, напоминания о приеме препаратов и пр.) так и вторичным путем, повышая общую резистентность организма благодаря контролю над хроническими соматическими заболеваниями[6]. В настоящее время существует проблема недостаточной настороженности и диагностики гериатрических синдромов в амбулаторном звене. [4]. По результатам исследования планируется составление упрощенного комплексного плана гериатрической оценки для пациентов старше 65 лет, для того, чтобы данную оценку можно было проводить в более коротких временных рамках амбулаторного приема и начинать коррекцию выявленных нарушений как можно раньше. Предполагается что в конечном итоге данные меры позволят снизить количество инфекционных заболеваний у пациентов старше 65 лет и улучшить качество их жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brishkoska-Boshkovski V, Dimitrovska I, Kondova-Topuzovska I. Clinical Presentation and Laboratory Characteristics in Acute and Recurrent Erysipelas. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Mar 14;7(5):771-774. doi: 10.3889/oamjms.2019.213. PMID: 30962836; PMCID: PMC6447339.

2. Современная гериатрия для врачей первичного звена: методическое пособие для врачей первичного звена здравоохранения / Ткачева О.Н., Бабенко И.В., Воробьева Н.М. [и др.]. — М.: Прометей, 2021. — 172 с.: ил.

3. Öztorun HS, Gözükara B, Bahşi R, Turgut T, Sürmeli DM, Seçer ÇC, Atmış V, Yalçın A, Aras S, Varlı M. Association between depression scores and comprehensive geriatric assessment and frailty in geriatric outpatients with somatic complaints: an observational cross-sectional study. Turk J Med Sci. 2022 Jun;52(3):715-723. doi: 10.55730/1300-0144.5365. Epub 2022 Jun 16. PMID: 36326335; PMCID: PMC10390151.

4. Лаптева Е.С, Аристидова С.Н., Арьев А.А. Хронометраж и методология комплексной гериатрической оценки на примере городского гериатрического центра // Успехи геронтологии. 2020. № 33. С. 62–64. DOI: 10.34922/AE.2020.33.1.007

5. Гурьянова Е.А., Речапова Э.А., Сидякина Е.С. Эффективность комплексной гериатрической оценки для улучшения качества жизни пожилых людей и облегчения нагрузки на лиц, осуществляющих уход за ними [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 4. – С. 79–90. – URL: http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/4/9. DOI: 10.47026/2413- 4864-2021-4-79-90.

6. Mazya AL, Garvin P, Ekdahl AW. Outpatient comprehensive geriatric assessment: effects on frailty and mortality in old people with multimorbidity and high health care utilization. Aging Clin Exp Res. 2019 Apr;31(4):519-525. doi: 10.1007/s40520-018-1004-z. Epub 2018 Jul 23. PMID: 30039453; PMCID: PMC6439176.

АНАЛИЗ РАБОТЫ ПЕРВОГО РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПАЦИЕНТОВ С ВИТИЛИГО

Е.И. Цыганкова, В.В. Петунина, Н.Н. Потекаев, О.В. Жукова, В.Ю. Васенова

Екатерина Игоревна Цыганкова, аспирант ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Валентина Вадимовна Петунина, к.м.н., доцент ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Николай Николаевич Потекаев, д.м.н., профессор ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Ольга Валентиновна Жукова, д.м.н., профессор ФГАОУ ВО РУДН им. П. Лумумбы

Виктория Юрьевна Васенова, д.м.н., профессор ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

В дерматовенерологии часто высыпания, не сопровождающееся субъективными ощущениями, игнорируются пациентом, как симптом. К сожалению, на протяжении долгих лет, витилиго в зарубежном и отечественном обществе приобрело репутацию не столько заболевания, сколько косметического дефекта, слабо поддающегося терапии. Такой взгляд до недавнего времени поддерживался и медицинским сообществом. На сегодняшний день уже не подлежит сомнению, что ведущая роль в патогенезе заболевания отводится аутоиммунной природе. На самом деле, наличие витилиго указывает на риски развития аутоиммунных заболеваний и позволяет рассматривать такого пациента как коморбидного, напоминая о необходимости мультидисциплинарного подхода к курации таких больных.

В 2019 году под эгидой национального альянса дерматовенерологов и косметологов был создан регистр пациентов с витилиго. Целью данного проекта является аккумулирование актуальных данных по распространенности заболевания, триггерных факторах, методах терапии, их эффективности, влиянии сопутствующей патологии на течение, терапию витилиго и качество жизни больных. На платформе разработана удобная карта пациента, позволяющая проводить консультации он-лайн, что повышает доступность дерматологической помощи таким пациентам и несет просветительские функции. Анализ полученных данных подтверждает предположение иностранных коллег о неточности эпидемиологических сведений по распространенности витилиго, поскольку 78,3% зарегистрированных в проекте пациентов никогда ранее не обращались за помощью к врачу-дерматологу. За 4 года существования проекта, в ходе активного проспективного наблюдения у 9,68% пациентов впервые были выявлены аутоиммунные коморбидные заболевания на ранних стадиях. Это доказывает, что рекомендации по обследованию и ведению таких пациентов требуют пересмотра и дополнительного обучения врачей.

Выводы: Вопросы первичной профилактики ряда аутоиммунных заболеваний, в частности таких как сахарный диабет I типа, становятся реальной клинической практикой.

Выделение групп риска на основе созданного регистра создает потенциал практического применения полученных научных результатов, соответствует переходу к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, обусловленных Стратегией научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 н. №642

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ОПТИМИЗАЦИИ МЕТОДОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.А. Чехонацкий[1], О.Б. Лоран[1, 2]

[1]ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

[2] ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина, Москва, Россия

Введение. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) представляет собой одно из наиболее распространенных заболеваний в урологической практике, которое встречается у 14-26% мужчин возраста свыше 60 лет [1, 2]. Актуальной этой проблемы подчеркивается и демографическими данными Всемирной организации здравоохранения, которые демонстрируют рост населения возрастом свыше 60 лет, что значительно опережает рост численности населения в целом, что характерно, в том числе и для нашей страны [3,4].

Следуя рекомендациям Европейской ассоциации урологов (ЕАУ) [5], Американской урологической ассоциации (АУА) [6], существует обширный перечень хирургических методов для оперативного лечения ДГПЖ. Тем не менее, показания для применения каждого из них часто различаются, равно как и результаты мета-анализов [5, 6, 7, 8, 9, 10].

Безусловно, существует множество исследований, по выявлению прогностических факторов, влияющих на выбор того или иного метода хирургического лечения ДГПЖ. Число возможных их комбинаций составляет достаточно большой список, в связи с чем полноценно учитывать их все человеку крайне сложно. Установлено, что количество предикторов, которые врач может одновременно эффективно рассматривать, составляет не более 15 [11], что, на наш взгляд, может быть решено путём применения искусственного интеллекта. Учитывая вышесказанное, нами, совместно с кафедрой вычислительной математики и программирования Московского авиационного института создана прогностическая модель, прогнозирующая функциональные результаты и осложнения одних из наиболее распространенных и доступных методов хирургического лечения ДГПЖ: биполярная трансуретральная резекция простаты (бТУРП) и позадилонная аденомэктомия (ПАЭ).

Цель исследования. Разработать способ прогнозирования функциональных результатов и осложнений биполярной трансуретральной резекции простаты и позадилонной аденомэктомии используя методы искусственного интеллекта.

Материалы и методы. Для создания прогностической модели нами использовались результаты обследования и лечения 420 пациентов, поступивших в ГКБ. им. С.П. Боткина в период с сентября 2018 по декабрь 2022 года, требующих плановое оперативное лечение ввиду наличия инфравезикальной обструкции, обусловленной ДГПЖ. Выделены обучающая и экзаменационная выборки. Обучающую выборку составил 162 пациент после бТУРП и 178 больных после ПАЭ. В экзаменационную выборку вошли по 40 пациентов после бТУРП и ПАЭ соответственно. На обучающих выборках выполнено создание прогностической модели, а на основании экзаменационных – её апробация и определение точности.

Информационный компонент представлен реляционной облачной онлайн базой данных на платформе «Google Таблицы» (https://docs.google.com), включающей в себя анонимные пред- и послеоперационные характеристики пациентов. Такая база данных является общедоступной и может быть дополнена клиническим материалом, в том числе и других клинических центров. Интеллектуальный компонент представлен методами машинного обучения и нейросетевого программирования. Реализация обоих методов осуществляется на языке программирования Python, а вычислительные процессы производятся на виртуальных машинах облачной платформы Google Colab, что в свою очередь не требует дополнительной мощности от используемого персонального компьютера.

Результаты. Входящие данные ИИ-модели и прогнозируемые ею параметры представлены в таблице 1.

Таблица 1. Входящие данные ИИ-модели и прогнозируемые ею параметры

	Входящие данные ИИ-модели	Прогнозируемые параметры
1	возраст пациента	продолжительность операции (мин)
2	объём предстательной железы (см3)	величина падения уровня гемоглобина (гл/л)
3	величина интравезикальной простатической протрузии (мм)	вероятность гемотрансфузии
4	наличие конкрементов мочевого пузыря	вероятность рекатетеризации
5	наличие цистостомы	вероятность возникновения гиперактивности детрузора
6	предшествующая биопсия простаты	вероятность возникновения стриктуры уретры
7	наличие сахарного диабет 2-го типа	продолжительность ирригации мочевого пузыря (дней)

8	наличие атеросклероза в любых его проявлениях	продолжительность катетеризации мочевого пузыря
9	индекс массы тела пациента (кг/м2)	продолжительность госпитализации
10	уровень ПСА крови (нг/мл)	величина Qmax через 1 месяц (мл/с)
11	исходная величина Qmax (мл/с) по данным урофлоуметрии	величина Qmax через 3 месяца (мл/с)
12	исходное количество баллов по шкале IPSS	величина Qmax через 6 месяцев (мл/с)
13	исходное количество баллов по шкале QoL	количество баллов шкалы IPSS через 1 месяц
14	исходный объём остаточной мочи (мл)	количество баллов шкалы IPSS через 3 месяца
15		количество баллов шкалы IPSS через 6 месяцев
16		количество баллов шкалы QoL через 1 месяц
17		количество баллов шкалы QoL через 3 месяца
18		количество баллов шкалы QoL через 6 месяцев
19		величина объёма остаточной мочи через 1 месяц
20		величина объёма остаточной мочи через 3 месяца
21		величина объёма остаточной мочи через 6 месяцев

Первым этапом явился анализ входных параметров и обучение прогностической модели на обучающей выборке. Это выполнено благодаря вышеописанным методам машинного обучения и нейросетевого моделирования. Следует отметить, что для каждого параметра методов искусственного интеллекта высчитали p-value, а также величину «scores», которая отражает степень влияния входных данных на тот или иной выходной параметр. Результаты анализа прогностических важных факторов с использованием методов искусственного интеллекта, влияющих на осложнения и функциональные результаты бТУРП и ПАЭ, представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Прогностически значимые факторы, выявленные с помощью искусственного интеллекта

№	бТУРП			ПАЭ		
	Признак	p-value	Score	Признак	p-value	Score
1	ИПП	< 0,001	404,73	ИПП	< 0,001	673,41
2	IPSS (исходный), баллов	< 0,001	227,99	Qmax (исходный), мл\с	< 0,001	334,78

3	QoL (исходный), баллов	< 0,001	179,66	QoL (исходный), баллов	< 0,001	201,12
4	Qmax (исходный), мл\с	< 0,001	141,65	IPSS (исходный), баллов	< 0,001	122,21
5	Наличие цистостомы, да\нет	0,002	9,88	ООМ (исходный), мл	< 0,001	78,94
6	ПСА крови, нг\мл	0,004	9,04	Наличие цистостомы, да\нет	0,002	9,77
7	Объём простаты, $см^3$	0,005	8,32	Индекс массы тела, баллов	0,002	9,46
8	ООМ (исходный), мл	0,005	8,22	Объём простаты, $см^3$	0,004	8,72
9	Сахарный диабет 2-го типа, да/нет	0,008	7,36	ПСА крови, нг\мл	0,007	7,59
10	Биопсия простаты, да/нет	0,009	7,07	Возраст	0,01	6,85
11	Индекс массы тела, баллов	0,021	5,50	Биопсия простаты, да/нет	0,011	6,71
12	Возраст	0,031	5,51	Наличие камней в мочевом пузыре, да\нет	0,015	6,12
13				Атеросклероз, да/нет	0,019	5,69
14				Сахарный диабет 2-го типа, да/нет	0,022	5,42

Таким образом, как продемонстрировано в таблице 2, с помощью методов искусственного интеллекта выявлено 12 уникальных прогностически значимых факторов в отношении бТУРП и 14 факторов – в отношении ПАЭ.

Следующим этапом явилось обучение ИИ-модели и определение ее точности. Обучение, как было указано ранее, выполнено с помощью методов машинного обучения и нейросетевого моделирования. Точность разработанной нами прогностической модели была апробирована на экзаменационной выборке ретроспективной группы больных, которая включала 80 ранее неизвестных искусственному интеллекту пациентов. Среди них – 40 (50%), перенесших бТУРП, и 40 (50%) – ПАЭ. По клиническим характеристикам пациенты экзаменационной выборки не имели достоверных отличий от обучающей. Следует отметить, что прогностическая модель имела рекомендательный вспомогательный характер, а итоговое решение в отношении выбора хирургического метода оставалось непосредственно за врачом. Точность прогностической модели в отношении функциональных результатов и осложнений бТУРП и ПАЭ на экзаменационной выборке продемонстрирована в таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Точность прогностической модели в прогнозировании функциональных результатов и осложнений лечения пациентов методом бТУРП

Показатель	*Mean Average Error*	*Точность, %*
Qmax 1 мес.	3,50	96,50
IPSS 6 мес.	4,10	95,90
Qmax 6 мес.	4,43	95,57
Qmax 3 мес.	4,55	95,45
QoL 6 мес.	4,87	95,13
IPSS 1 мес.	5,87	94,13
Продолжительность операции	5,94	94,06
IPSS 3 мес.	6,86	93,14
QoL 3 мес.	10,70	89,30
Падение уровня гемоглобина	11,30	88,70
QoL 1 мес.	12,00	88,00
Продолжительность госпитализации	12,30	87,70
Потребность рекатетеризации	12,50	87,50
Продолжительность ирригации	16,30	83,70
Продолжительность катетеризации	18,80	81,20
Гемотрансфузия	19,50	80,50
Гиперактивность детрузора	20,50	79,50
Стриктура уретры	21,50	78,50
ООМ 1 мес.	23,30	76,70
ООМ 6 мес.	25,10	74,90
ООМ 3 мес.	30,30	69,70
Среднее значение	13,05	86,94

Таблица 4. Точность прогностической модели в прогнозировании функциональных результатов и осложнений лечения пациентов методом ПАЭ

Показатель	*Mean Average Error*	*Точность, %*
Qmax 1 мес.	4,18	95,82
IPSS 6 мес.	5,03	94,97
Qmax 6 мес.	5,48	94,52
Qmax 3 мес.	5,80	94,20
QoL 6 мес.	6,3	93,72
IPSS 1 мес.	6,43	93,57
Продолжительность операции	6,50	93,50
IPSS 3 мес.	7,64	92,36
QoL 3 мес.	7,79	92,21
Падение уровня гемоглобина	7,9	92,10
QoL 1 мес.	8,57	91,43
Продолжительность госпитализации	8,60	91,40
Потребность рекатетеризации	9,50	90,50
Продолжительность ирригации	10,20	89,80
Продолжительность катетеризации	10,80	89,20
Гемотрансфузия	11,50	88,50
Гиперактивность детрузора	12,50	87,50
Стриктура уретры	12,50	87,50
ООМ 1 мес.	14,00	86,00
ООМ 6 мес.	15,50	84,50
ООМ 3 мес.	16,50	83,50
Среднее значение	*9,2*	*90,80*

Следуя таблицам 3 и 4, значение средней ошибки составило 13,05% для прогнозирования функциональных результатов и осложнений бТУРП и 9,20% для ПАЭ. Прогностическая точность прогностической модели составила 86,94% в отношении бТУРП и 90,80% в отношении ПАЭ. Общая точность прогностической модели составила 88,87%.

Выводы. Учитывая, что, количество предикторов, которые врач может одновременно эффективно рассматривать, составляет не более 15, искусственный интеллект имеет значительный потенциал в различных областях медицины, в том числе и в оптимизации методов хирургического лечения ДГПЖ. Таким образом, нами, с помощью методов искусственного интеллекта выявлено 12 уникальных прогностически значимых факторов в отношении бТУРП и 14 факторов – в отношении ПАЭ. Вместе с этим, созданная прогностическая модель имеет «облачную» структуру, основанную на бесплатных ресурсах, что позволяет дополнять её клиническим материалом, в том числе и из других медицинских центров, а также не требует особенных вычислительных мощностей персонального компьютера.

Созданная нами прогностическая ИИ-модель демонстрирует точность величиной 86,94% в отношении бТУРП и 90,80% – в отношении ПАЭ. Общая точность прогностической модели составила 88,87%. Это открывает большие возможности к ее применению в «пограничных» и «спорных» ситуациях, в особенности, которые недостаточно регламентированы в рекомендациях урологических сообществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болотов, А. Д. Интравезикальная простатическая протрузия у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы : дис. … канд. мед. наук : 14.01.23 / Болотов Андрей Дмитриевич. – Москва, 2018. – 180 с.
2. Данилов, В. В. Клиническая и уродинамическая оценка эффективности консервативного лечения нарушения мочеиспускания у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы / В.В. Данилов, Т. И. Данилова, В.В. Данилов [и др.] // Урология. – 2013. – № 5. – С. 55–58.
3. Аляев, Ю. Г. Гиперплазия простаты у больных опухолью почки: особенности хирургического лечения / Ю. Г. Аляев, Л. М. Рапопорт, А. М. Пшихачев [и др.]. // Вопросы урологии и андрологии. – 2019. – Т.7, № 1. – С. 5–11.
4. Живов, А.В. Взаимосвязь различных клинических параметров при ятрогенных стриктурах уретры у мужчин / А.В. Живов, Р.Л. Тедеев, Д.Ю. Пушкарь [и др.]. // Вопросы урологии и андрологии. – 2019. – Т. 7, № 3. – С. 35–40.
5. Рекомендации Европейского общества урологов / пер. с англ. В. В. Анисимова. – М. : МЕДпресс-информ, 2018. – 208 с.
6. Рекомендации Американского общества урологов / American Urological Association. – 2019. – URL: https://www.auanet.org/guidelines/для-пациентов. [англ.]

7. Мустафаев, А. Т. Хирургическое лечение доброкачественной гиперплазии предстательной железы: прошлое и настоящее / А.Т. Мустафаев, П.С. Кызласов, М.П. Дианов [и др.]. // Урологические ведомости. – 2019. – Т. 9, № 1. – С. 47–56.
8. Сравнительный анализ методов лечения аденомы предстательной железы свыше 100 см3. / И.Н. Орлов, А.Г. Мартов, Э.А. Галлямов [и др.] // Урология. – 2017. - №6. – С.82–86.
9. Sun, F. Transurethral procedures in the treatment of benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis of effectiveness and complications / F. Sun, X.
10. Huang, S. W. Comparative efficacy and safety of new surgical treatments for benign prostatic hyperplasia: systematic review and network meta-analysis / S. W. Huang, C. Y. Tsai, C. S. Tseng [et al.] // BMJ. – 2019. – № 367. –P. l5919.
11. Ларичев, О. И. Выявление экспертных знаний / О. И. Ларичев. – М. : Наука, 1989. – 128 с.

ПЕДИАТРИЯ

Хотовицкий Степан Фомич (1796–1885)

«Конечно распознавание и лечение детских болезней требует гораздо тщательнейшего наблюдения, гораздо большей прозорливости и практического навыка, нежели как нужно в отношении к болезням взрослых особ, для детского врача ... нужны особенный такт и особенное чувство семиотическое»

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПРИ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПО ДАННЫМ МЕТАГЕНОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

М.В. Алагова, К.Д. Ермоленко

ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, Санкт-Петербург

Ротавирусы являются одной из наиболее частых причин диарей среди детей. По данным Всемирной организации здравоохранения среди 1 - 1,2 млрд. «диарейных» заболеваний, регистрируемых ежегодно, от половины до двух третей приходится на вирусные инфекции, в структуре которых более половины случаев составляет ротавирусная инфекция (РВИ). Микробиоценоз кишечника может играть важную роль в определении тяжести инфекционного процесса.

Целью работы явилось оценить состав кишечного микробиоценоза у детей с ротавирусной инфекцией в зависимости от тяжести заболевания.

Материалы и методы

В исследование было включено 28 больных, проходивших лечение в период 2023 - 2024 гг. в ДНКЦИБ ФМБА России. Верификацию этиологического диагноза РВИ осуществляли, исследуя пробы фекалий больных, методом ПЦР. Состав микробиоценоза кишечника оценивали методом 16S рРНК-секвенирования, применяли ампликонное секвенирование маркерного вариабельного участка V3–V4 бактериальных генов. Оценку состава микробиоты кишечника проводили при поступлении в стационар и на 1-3 сутки заболевания. Тяжесть течения РВИ оценивали по шкале Везикари.

Результаты

Средний возраст детей составил 2,7±0,4 лет. У 6 детей значение шкалы Везикари соответствовало тяжелому течению РВИ, у 14 РВИ средней степени тяжестию При проведении 16S рРНК метагеномного исследования 94 % нуклеотидных последовательностей было идентифицировано до уровня рода. За оперативную таксономическую единицу принимали род микроорганизма. Суммарно по 28 образцам было идентифицировано 2012 уникальных OTU, согласно современной номенклатуре прокариот, были разделены на 8 бактериальных филов, 38 семейств и 57 родов бактерий. На каждый образец в среднем приходилось 105 [90; 200] OTU. Индекс α-разнообразия Шеннона кишечной микробиоты был значительно ниже у пациентов с РВИ тяжелой степени по сравнению с формами легкой и средней тяжести ($p = 0,021$). В целом, для детей рассматриваемой группы было характерно доминирование грамположительных анаэробных бактерий, на долю которых приходилось 81,1±12,3 %. По результатам анализа

выявлено, что в среднем нормированном количественном отношении у детей с РВИ доминировали *Firmicutes* (47,32±16,24 %), *Actinobacteria* (18,09±10,93 %) и *Proteobacteria (Pseudomonadota) (*15,95±8,17 %).

У детей с РВИ средней степени тяжести были в большей степени, чем при тяжелой представлены филы *Firmicutes*, *Proteobcteria*, в меньше процентном содержании обнаруживались *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes*. Анализ главных компонент показал, что при более легком течении РВИ отмечалась выраженная кластеризация на уровне в зоне фила *Proteobacteria*, при более тяжелом течение в зонах, соответствующих представителей *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes.* Была выявлена сильная обратная корреляционная связь (r=-0,67 [-0,62; -0,72]; p=0,021) между тяжестью РВИ по шкале Кларка и уровням альфа-разнообразия.

Таким образом, тяжелые формы ротавирусной инфекции характеризуются снижением индекса альфа-разнообразия Шеннона, сгижением доли филов *Firmicutes*, *Proteobcteria*, и увеличением филов *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes*.

ХАРАКТЕРИСТИКА АКУСТИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА РАБОТЫ ДЫХАНИЯ У ДЕТЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Е.В. Асеева, Л.А. Феденева

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

В настоящее время актуальна проблема ранней диагностики патологий дыхательной системы у детей. В клинической практике для оценки функции внешнего дыхания (ФВД) используется метод компьютерной бронхографии (КБФГ). В России исследования для оценки звуков дыхания начаты в лаборатории Московского энергетического института в 1976 г. В 1982 г по инициативе проф. С.Ю. Каганова были инициированы клинические исследования акустических характеристик дыхательных шумов при бронхолегочной патологии, положившие начало развитию метода компьютерной бронхофонографии (КБФГ) с использованием прибора Паттерн-01[1]. При проведении КБФГ акустический шумовой сигнал, возникающий при дыхании, может быть зарегистрирован с помощью микрофона. Сигнал передается напрямую через микрофон в компьютер с визуализацией и дальнейшей цифровой обработкой.

В последние годы на кафедре инженерной экологии и охраны труда Московского энергетического института группой авторов был разработан прибор регистратор респираторных звуков (РРЗ) (ТУ 26.60.12-001-56880266-2019) с опорой на технический принцип Паттерн-01 и с использованием новых медико-технических требований [2,3].

Регистратор респираторных звуков (РРЗ) — следующее поколение приборов, которое оценивает акустический компонент работы дыхания (АКРД) и осуществляет расчет параметров респираторного цикла.

Наибольшие трудности исследования функции внешнего дыхания возникают у детей первых пяти лет жизни, так как они, как правило, не могут выполнять традиционные дыхательные маневры и обследоваться методом стандартной спирографии. У детей младше 5 лет, помимо классической аускультации легких, используются методы исследования при спокойном дыхании – бронхофонография, импульсная осциллометрия и др.[4,5].

Цель данного исследования — выявить отличительные особенности АКРД у здоровых детей разного возраста, произвести сравнительный анализ значений в разных возрастных группах.

Материалы и методы

В педиатрическом отделении Сеченовского центра материнства и детства Сеченовского Университета (Университетская детская клиническая больница) обследованы 195 практически здоровых детей от 1 до 18 лет, которые составили контрольную группу. Было выделено три возрастных группы: 30 детей 1-5 лет и 70 детей 6–11 лет и 95 детей 12 лет и старше, из них 86 (52%) мальчиков и 79 (48%) девочек.

Регистрация дыхательных шумов проводили с использованием РРЗ (МЭИ, Россия, 2021 г.). . В РРЗ такие же диапазоны частотные диапазоны, как и при использовании Паттерна-01, т.е. в низкочастотном диапазоне (НЧД)-Р1 (200– 1200 Гц), среднечастотном диапазоне (СЧД) Р2 (> 1200–5000 Гц) и высокочастотном диапазоне (ВЧД) Р3 (> 5000 Гц), а также общая акустическая работа дыхания (оАКРД) (Р суммарно общий на вдохе и выдохе).Процедура производится в положении сидя при спокойном дыхании в течение 10 секунд. Если ребенок тревожный, беспокойный, то регистрация может проводиться, когда он сидит на коленях у родителей. Для достижения трех воспроизводимых результатов процедура повторяется несколько раз. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью статистических программ Statistica V10, StatSoft Inc. (США), SAS V8 (США) и SPSS Statistics V17 (США). Параметры, характеризующие числовые значения, имеют различные распределения и представлены в разных форматах. Для параметров с нормальным распределением используется формат "м ± sd", где "м" обозначает среднее значение, а "sd" - стандартное отклонение среднего. Параметры с распределением, отличным от нормального, приводятся в формате "ме (q25%; q75%)", где "ме" является медианой, а "q25%" и "q75%" - верхним и нижним квартилями соответственно. Для сравнения числовых данных после проверки их на нормальность использовался t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. Аналогично, для сравнения непараметрических данных без связи между ними был применен критерий Манна-Уитни. В обоих случаях критический уровень значимости, при котором проверяются статистические гипотезы, принимался равным 0,05.

Результаты

У детей в возрасте до пяти лет имеются наибольшие трудности в исследовании функции внешнего дыхания. Как правило у детей первых 5 лет жизни не получается осуществить стандартные дыхательные маневры и обследование с помощью спирометрии не представляется возможным.

Мы исследовали группу здоровых детей с использованием РРЗ (32 ребенка) первых 5 лет жизни. Было выделено три возрастных группы: >1-2 лет, >2-3 и >3-5 лет (таблица 1).В данной возрастной

группе провести спирометрию возможно только в единичных случаях, в связи с необходимостью сложных согласованных дыхательных маневров. КБФГ проводится при обычном спокойном дыхании, что позволяет выявить показатели у детей раннего возраста. Обращает на себя внимание значения АКРД в высокочастотном диапазоне, не более 2,5 мПА, что не превышает референсные значения, полученные нами ранее у детей школьного возраста.

Таблица 1. Опорные показатели общего акустического компонента работы дыхания суммарно на вдохе и выдохе у детей в НЧД (Р1), СЧД (Р2), ВЧД (Р3) младше 1-5 лет мПА(миллиПаскаль)

Фаза респираторного цикла	*Частотный диапазон, мПа*	*>1-2 лет*	*>2-3 лет*	*>3-5 лет*
Общий	*Р1*	19,6[13,1;26,2]	23[13,7;25,2]	20.4 [13,7;26,2]
	Р2	8.4[5,8;13,1]	7,9[5,1;12,1]	8.08 [5,1;13,1]
	Р3	1.9 [1,2;2,5]	2,1[1,5;2,5]	1.83 [1,3;2,5]

При сравнении общего АКРД у здоровых детей в разных возрастных группах 1-5, 6-11 и 12-17 лет не было выявлено статистически достоверной разницы (таблица 2). Полученные значения использовались в качестве опорных показателей.

Так же мы анализировали АКРД в разных фазах дыхательного цикла: на вдохе и выдохе (таблица 2) во всех возрастных группах. Показатели АКРД в низкочастотном диапазоне на выдохе были достоверно выше по сравнению с значениями на вдохе ($p<0,05$).

Таблица 2. Опорные показатели акустического компонента работы дыхания у детей разных возрастных групп на вдохе и выдохе, мПА(*$p<0,05$ НЧД на вдохе)

Фаза респираторного цикла	*Частотный диапазон, мПа*	*Возраст*		
		1-5 лет	*6-11 лет*	*12-17 лет*

ВДОХ	*Р1(НЧД)*	13[9,4;22,7]*	16[8,1;20,8]*	16[10,5;19,9]*
	Р2(СЧД)	6,9[1,9;22,6]	5,9[4,1;10,9]	5,6[4,4;8,6]
	Р3(ВЧД)	1,6 [1,3;2,1]	2[1,3;2,3]	2,4[1,5;2,8]
ВЫДОХ	*Р1(НЧД)*	25[16,6;35,2]*	24[16,2;29,1]*	24[16,2;33,6]*
	Р2(СЧД)	8,4[4,2;20,5]	8,5[5,3;13,7]	8,2[5,8;9,9]
	Р3(ВЧД)	2,2[1,8;2,9]	2,4[1,9;3,3]	3[2,0;3,4]

Благодаря новым техническим особенностям РРЗ появилась возможность расчета длительности вдоха и выдоха в секундах. При анализе продолжительности вдоха и выдоха у здоровых детей не было выявлено статистически достоверной разницы.

Выводы

Регистратор респираторных звуков является одной из развивающихся отечественных технологий в области способов оценки функционального состояния органов дыхания.

В нашем исследовании было показано, что РРЗ можно эффективно использовать для оценки состояния ФВД у детей разного возраста Технология регистрации звука может быть использована для мониторинга эффективности лечебно-профилактических мероприятий у детей. Акустический метод может дополнять показатели спирометрии в оценке ФВД у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геппе Н.А., Малышев В.С. Компьютерная бронхография респираторного цикла. -М: Медиа Сфера, 2016. -108 с.
2. Малышев В.С., Федорова Е.В., Боровкова А.М., Трусилина А.В. Модель обработки массива экспериментальных данных по определению временной структуры респираторного цикла // Вестник МЭИ. -2018. -№ 4. -С. 138—144.
3. Асеева Е.В., Геппе Н.А., Малышев В.С., Бухаров Д.Г., Старостина Л.С., Шаталина С.И. Регистратор респираторных звуков для компьютерного анализа паттерна дыхания у детей// Доктор.Ру. -2023;-№3.-С.45–50.
4. Цыпленкова С. Э., Мизерницкий Ю.Л. Современные возможности функциональной диагностики внешнего дыхания у детей// Российский вестник перинатологии и педиатрии.-2015.-№ 5,-С.14-20.
5. Bertrand Z. F, Segall K. D, Sánchez D. I, Bertrand N. P. Pulmonary auscultation in the 21st century// *Rev Chil Pediatr*. -2020.-Vol 91,No 4.P.500-506.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА RS4253778 ГЕНА *PPARA* С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ

А.С. Бевз[1], Т.А. Бокова[1,2], О.П. Дрибноходова[3], В.И. Корчагин[3]

[1] ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва Россия

[2] ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

[3] ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Москва, Россия

Аннотация

Обоснование*:** значительно возросла распространенность детского ожирения, и согласно отчету Инициативы по эпиднадзору за детским ожирением (COSI) к 2020 году 29% детей 7-9 лет Европейского региона имели избыточную массу тела или ожирение. В настоящее время ожирение рассматривается как заболевание, генез которого носит мультифакторный характер. Многочисленные эпидемиологические исследования подтверждают значительный генетический вклад в развитие и тяжесть течения ожирения. ***Цель исследования*:** установить распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs4253778 гена *PPARA* у детей с ожирением, проживающих в Московском регионе, и его ассоциацию с показателями липидного обмена. ***Методы*:** Проведено одномоментное одноцентровое нерандомизированное неконтролируемое исследование. В исследование включено 87 детей с экзогенно-конституциональным ожирением. Оценивались показатели липидограммы (общий холестерин, триглицериды, липопротеины низкой плотности, липопротеины высокой плотности), полиморфизм rs4253778 гена *PPARA*. Исследовали ассоциацию генотипов показателями липидного обмена в различных генетических моделях. ***Результаты*:** Генотип CC ассоциирован с более высокими уровнями общего холестерина, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности. Имелось статистически значимое снижение содержания показателей липидного профиля у носителей генотипа GC, который, вероятно, является протективным в отношении метаболических осложнений. ***Заключение*:** Учитывая ассоциацию генотипа rs4253778-CC с нарушениями липидного обмена и заболеваниями сердечно-сосудистой системы, дети с ожирением и генотипом CC относятся к группе риска по раннему развитию осложнений. ***Ключевые слова: ожирение, дети, липидный обмен, полиморфизм, генотип.

THE RELATIONSHIP OF THE RS4253778 POLYMORPHISM OF THE *PPARA* GENE WITH LIPID METABOLISM IN OBESE CHILDREN

A. S. Bevz[1], T. A. Bokova[1,2], O. P. Dribnokhodova[3], V. I. Korchagin[3]

[1]Moscow Regional Research Clinical Institute named after. M.F. Vladimirsky ("MONIKI")

[2]Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

[3]Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Abstract

Background: The prevalence of childhood obesity has increased significantly, and according to a report by the Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI) by 2020, 29% of children aged 7-9 in the European region were overweight or obese. Currently, obesity is considered as a disease, the genesis of which is multifactorial. Numerous epidemiological studies confirm a significant genetic contribution to the development and severity of obesity. ***Aims:*** to establish the distribution of alleles and genotypes of the rs4253778 polymorphism of the PPARA gene in obese children living in the Moscow region and its association with lipid metabolism indicators. ***Materials and methods:*** A single-stage, single-center, non-randomized, uncontrolled study was conducted. The study included 87 children with exogenous constitutional obesity. Lipidogram parameters (total cholesterol, triglycerides, low-density lipoproteins, high-density lipoproteins), polymorphism rs4253778 of the *PPARA* gene were evaluated. The association of genotypes with indicators of lipid metabolism in various genetic models was studied. ***Results:*** CC genotype is associated with higher levels of total cholesterol, triglycerides and low-density lipoproteins. There was a statistically significant decrease in the content of lipid profile indicators in carriers of the GC genotype, which is probably protective against metabolic complications. ***Conclusions:*** Considering the association of the rs4253778-CC genotype with lipid metabolism disorders and diseases of the cardiovascular system, children with obesity and the CC genotype are at risk for early development of complications. ***Keywords***: lipid metabolism, obesity, children, polymorphism, genotype.

Обоснование

Неуклонный рост ожирения среди населения признан глобальной проблемой. Значительно возросла распространенность детского ожирения, и согласно отчету Инициативы по эпиднадзору за детским ожирением (COSI) к 2020 году 29% детей 7-9 лет Европейского региона имели избыточную массу тела или ожирение [1]. В ходе собственных исследований было установлено, что общая

заболеваемость ожирением у детей, проживающих в Московской области, за 10 лет выросла на 4% - с 11,8 до 12,3 на 1000 населения, причем наиболее выраженный прирост отмечается среди подростков 15-17 лет – на 23% (с 22,5 до 27,7 на 1000 населения). Вместе с тем, увеличилась частота диагностики тесно ассоциированных с ожирением заболеваний: сахарного диабета 2 типа, различных сердечно-сосудистых заболеваний, неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), а также метаболического синдрома [2-5]. В настоящее время ожирение рассматривается как заболевание, генез которого носит мультифакторный характер. На неоднородность клинических проявлений, течение и исходы влияет множество факторов: генетические, эпигенетические, возраст, пол, этническая принадлежность, пищевые привычки, состояние гормонального статуса, углеводного и липидного обменов, качественный и количественный состав микробиоты и пр. В последнее десятилетие большое внимание ученых и клиницистов привлекает возможность определения генетических маркеров, ассоциированных с развитием и течением метаболических нарушений. Хоть в настоящее время нет молекулярно-генетического объяснения возраста дебюта ожирения и вклад каждого из генов в развитие ожирения невелик [6,7], многочисленные эпидемиологические исследования подтверждают значительный генетический вклад в тяжесть течения этого заболевания [8]. Одним из генов, регулирующих углеводный и липидный обмены, является ген *PPARA* (22q13.31) - рецептор активатора пероксисом альфа. В большом количестве он экспрессируется в жировой ткани, печени, сердце, почках и кишечнике – в органах с выраженным катаболизмом жирных кислот. PPARA в печени активируют катаболизм жиров, контролируют обмен липопротеинов, а также стимулируют глюконеогенез и синтез кетоновых тел.

Цель исследования: установить распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs4253778 гена *PPARA* у детей с ожирением, проживающих в Московском регионе, и его ассоциацию с показателями липидного обмена.

Методы

Дизайн исследования

Проведено одномоментное одноцентровое нерандомизированное неконтролируемое исследование.

Критерии соответствия

В исследование включались пациенты по следующим критериям: пациенты обоего пола в возрасте от 5 до 17 лет; наличие экзогенно-конституционального ожирения (SDS ИМТ ≥ +2,0); отсутствие ранее и на момент исследования лечения основного заболевания; наличие подписанного добровольного согласия на проведение исследования законным представителем ребенка. Критериями невключения являлись: синдромальные, моногенные и другие формы ожирения;

наличие острого инфекционного заболевания и/или обострение хронического заболевания за месяц до и на момент исследования; прием глюкокортикостероидов, антидепрессантов, нейролептиков, противоэпилептических препаратов.

Условия проведения

Клиническое исследование и отбор пациентов проводились на базе педиатрического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского г. Москва в рамках плановой госпитализации. Генотипирование образцов осуществлялось в ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии г. Москва.

Продолжительность исследования

Работа была проведена в период с сентября по декабрь 2023 года.

Описание медицинского вмешательства

В рамках исследования проводился подробный сбор анамнеза для оценки качества питания, измерение антропометрических данных (рост, вес), расчет SDS ИМТ проводился по программе ВОЗ AnthroPlus. Согласно действующим клиническим рекомендациям «Ожирение у детей» диагноз устанавливался при SDS ИМТ ≥2,0. Для исключения других форм ожирения, дети консультированы детским эндокринологом и генетиком. Оценивались показатели липидограммы (общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП)) в первые сутки госпитализации. Забор крови проводился утром натощак из кубитальной вены в объеме 5 мл однократно. Для проведения молекулярно-генетического исследования образцы обезличенного остаточного биологического материала (венозная кровь, взятая для выполнения рутинных лабораторных исследований в рамках госпитализации, после проведения необходимого биохимического исследования) в специальных транспортных контейнерах в условиях ледяной бани доставлялись в ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Россия.

Исходы исследования

Основной исход исследования: основными исходами исследования считали показатели липидограммы, генотипы rs4253778.

Методы регистрации исходов

Биохимический анализ крови проведен на биохимическом анализаторе Beckman Coulter AU 5800, США. Для генотипирования использовали образцы геномной ДНК человека, выделенной из остаточной крови после проведенных рутинных лабораторных анализов, с помощью набора «РИБО-преп» (ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Россия). Генотипирование образцов проводили методом ПЦР в режиме реального времени с конформационно-блокированными (LNA) зондами, аналогично методике [9]. При создании и апробации методики, а также для верификации результатов

проводилось определение нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК, содержащих исследуемый полиморфизм, с помощью пиросеквенирования [10].

Этическая экспертиза

Исследование рассмотрено и одобрено независимым комитетом по этике при ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского от 31.08.2023г. (выписка из протокола заседания №12).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки: размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

Предобработку данных и формирование таблиц проводили в Microsoft Excel (США, версия 2108). Для количественных данных рассчитывали: среднее значение (M), ошибку среднего (SE) и доверительный интервал (Д.И.). Статистический анализ распределения частот аллелей и генотипов в выборках проводили в среде R с использованием стандартных функций для расчета критерия χ^2 Пирсона и точного теста Фишера для малых выборок [11]. Для поиска ассоциации использовали пакет SNPassoc (Juan R González и соавт., Испания) [12]. Статистически значимыми считались результаты при значении $p<0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В соответствии с поставленными задачами в исследование было включено 87 детей обоих полов в возрасте 5-17 лет (12,76±2,26 лет) с экзогенно-конституциональным ожирением. При обработке результатов не учитывались пол и степень ожирения.

Основные результаты исследования

Результаты исследования rs4253778 показали, что частота генотипов, содержащих аллель C у детей с ожирением, составила 25,3%: гомозиготы CC - 5,8%, гетерозиготы GC - 19,5%. Генотип GG выявлен у 74,7% пациентов. Частота аллеля C - 18%. Анализ генетических факторов и особенностей липидного профиля проводился по следующим параметрам: ОХ, ТГ, ЛПВП и ЛПНП. При анализе не учитывали пол и возраст пациентов.

Результаты показателей липидного профиля у детей с ожирением в зависимости от генотипа rs4253778 гена *PPARA* представлены в таблице 1.

Средний уровень ОХ у носителей генотипа CC (5,64±0,38) оказался выше на 32,3%, чем у носителей генотипов GG и GC (4,27±0,09) при использовании рецессивной модели анализа ассоциаций ($p=0,0006$). Генотип GC ассоциирован с более низким уровнем ОХ (3,95±0,16) по сравнению с генотипами GG (4,35±0,11) и CC (5,64±0,38) ($p=0,00062$, кодоминантная модель). Кроме

того, генотип CC связан с повышением уровня ТГ (2,18±0,58) по сравнению с генотипами GG и GC (1,32±0,07) (p=0,0037, рецессивная модель). У носителей генотипа GC наблюдался средний уровень ТГ ниже (1,27±0,12), чем у носителей генотипов GG (1,34±0,08) и CC (2,18±0,58) (p=0,014, кодоминантная модель). Выявлена ассоциация между высоким уровнем ЛПНП и генотипом CC (4,06±0,40). У носителей генотипов GG и GC средний уровень ЛПНП был ниже на 1,26 ммоль/л (2,8±0,08, p=0,0005, рецессивная модель). Также генотип GC был связан со снижением уровня ЛПНП на 0,18 ммоль/л (p=0,0016, кодоминантная модель), как и с ОХ и ТГ. Достоверных ассоциаций уровня ЛПВП с генотипами полиморфизма rs4253778 выявлено не было.

Таблица 1. Анализ ассоциации генотипов полиморфизма rs4253778 с показателями липидограммы

	ОНП	**n**	**M±SE**	**95% Д.И.**	**p**		**ОНП**	**n**	**M±SE**	**95% Д.И.**	**p**
Общий холестерин	Кодоминантная модель					**Липопротеины низкой плотности**	Кодоминантная модель				
	GG	62	4,35±0,11		0,0006		GG	51	2,84±0,10		0,002
	GC	17	3,95±0,16	-0,84-0,04			GC	15	2,66±0,14	-0,56-0,21	
	CC	5	5,64±0,38	0,54-2,04			CC	4	4,06±0,40	0,54-1,90	
	Доминантная модель						Доминантная модель				
	GG	62	4,35±0,11		0,94		GG	51	2,84±0,10		0,55
	GC-CC	22	4,34±0,21	-0,45-0,42			GC-CC	19	2,96±0,19	-0,27-0,50	
	Рецессивная модель						Рецессивная модель				
	GG-GC	79	4,27±0,09		0,0006		GG-GC	66	2,80±0,08		0,0005
	CC	5	5,64±0,38	0,62-2,13			CC	4	4,06±0,40	0,59-1,93	
Триглицериды	Кодоминантная модель					**Липопротеины высокой плотности**	Кодоминантная модель				
	GG	57	1,34±0,08		0,014		GG	41	1,11±0,04		0,53
	GC	16	1,27±0,12	-0,42-0,27			GC	11	1,08±0,05	-0,17-0,12	
	CC	5	2,18±0,58	0,27-1,41			CC	3	1,24±0,17	-0,12-0,4	
	Доминантная модель						Доминантная модель				
	GG	57	1,34±0,08		0,38		GG	41	1,11±0,04		0,87
	GC-CC	21	1,49±0,18	-0,18-0,47			GC-CC	14	1,12±0,05	-0,12-0,14	
	Рецессивная модель						Рецессивная модель				
	GG-GC	73	1,32±0,07		0,004		GG-GC	52	1,10±0,03		0,27
	CC	5	2,18±0,58	0,30-1,42			CC	3	1,24±0,17	-0,11-0,39	
	GC	16	1,27±0,12	-0,50-0,22			GC	11	1,08±0,05	-0,18-0,11	

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; n – количество человек; M – среднее значение; SE – ошибка среднего; Д.И. – доверительный интервал; p – уровень значимости.

Нежелательные явления

Нежелательные явления в ходе исследования не зарегистрированы.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Установлено, что каждый пятый обследованный ребенок с ожирением, проживающий в Московской области, является носителем минорного аллеля C полиморфизма rs4253778 в гене *PPARA*. Доказана связь данного полиморфизма с уровнем липидов крови: генотип CC ассоциирован с более высокими уровнями общего холестерина, триглицеридов и ЛПНП. Имелось статистически значимое снижение содержания показателей липидного профиля у носителей генотипа GC, который, вероятно, является протективным в отношении метаболических осложнений.

Обсуждение основного результата исследования

Ожирение связано с развитием многих метаболических нарушений, степень выраженности которых коррелирует со степень ожирения и стажем заболевания. Однако в литературе описаны случаи более устойчивые к развитию метаболических осложнений. Данный феномен получил название «metabolically healthy obesity» или «метаболически здоровое ожирение». В связи с чем большой интерес для исследователей и практического здравоохранения представляют механизмы реализации тех или иных осложнений ожирения и коморбидной патологии. Нами была изучена связь полиморфизма rs4253778 с состоянием липидного обмена у детей с ожирением. В исследование были включены ранее не получавшие лечение пациенты, чтобы минимизировать влияние терапии на показатели липидограммы. Полученные данные свидетельствуют о достоверной связи генотипа CC с дислипидемией, что не противоречит литературным данным. Зарубежные исследования показывают ассоциацию однонуклеотидного полиморфизма rs4253778 *PPARA* с развитием сахарного диабета 2 типа (увеличение риска развития нарушения углеводного обмена в 2,7 раз), отмечают значительные различия в уровнях общего холестерина и липопротеинов низкой плотности [13,14]. Есть данные, что носители аллеля C rs4253778 имеют высокий риск развития атеросклероза, сахарного диабета 2 типа и ишемической болезни сердца [15]. С нашей точки зрения, заслуживает внимание достоверное снижение показателей общего холестерина, триглицеридов и ЛПНП у носителей генотипа GC. Представляет интерес дальнейшее изучение ассоциации генотипов с показателями углеводного обмена и рисков развития метаболического синдрома.

Ограничения исследования

Фактором, способным повлиять на достоверность результатов, является малый объем выборки. Также возможен неравнозначный вклад полиморфизма rs4253778 в гене *PPARA* в развитии дислипидемии в зависимости от этнической принадлежности, так как в исследование были включены преимущественно представители европеоидной расы. Для более точной оценки влияния rs4253778 на показатели липидного обмена и определения возможности распространения полученных результатов на другие регионы необходимо проведение дополнительных исследований в других популяциях и с большим объемом выборки.

Заключение

Учитывая ассоциацию генотипа rs4253778-CC с нарушениями липидного обмена и заболеваниями сердечно-сосудистой системы, дети с ожирением и генотипом CC относятся к группе риска по раннему развитию осложнений, в связи с чем требуется совершенствование лечебно-диагностических мероприятий и оценки индивидуальных генетических рисков. Генетическое тестирование полиморфизма rs4253778 может быть использовано в комплексном обследовании детей с целью повышения качества персонализированного подхода к коррекции метаболических нарушений при оказании медицинской помощи детскому населению региона.

Источник финансирования

Работа (обследование пациентов, сбор материала) выполнена в рамках НИР №57 «Совершенствование подходов к профилактике и лечению ожирения у детей Московской области», номер регистрации 123030600011-5. Разработка и применение методик молекулярно-генетического исследования выполнялось в рамках темы НИОКР государственного задания «Изучение генетической предрасположенности к мультифакторным заболеваниям» (рег. № АААА-А21-121011890130-7).

Участие авторов

А.С. Бевз — разработка концепции и дизайна исследования, сбор, анализ, статистическая обработка и интерпретация данных, поисково-аналитическая работа, написание текста рукописи, оформление статьи в печать; Т.А. Бокова — разработка концепции и дизайна исследования, внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи; О.П. Дрибноходова — молекулярно-генетические исследования, анализ, статистическая обработка и интерпретация данных, внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи; В.И. Корчагин — статистическая обработка данных,

внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Childhood obesity in European Region remains high: new WHO report presents latest country data [Electronic recourse]. Available from: URL: https://www.who.int/europe/ru/news/item/08-11-2022-childhood-obesity-in-european-region-remains-high--new-who-report-presents-latest-country-data.

2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Петеркова В. А. и др. Сахарный диабет у детей и подростков по данным Федерального регистра Российской Федерации: динамика основных эпидемиологических характеристик за 2013–2016гг // *Сахарный диабет*. — 2017. — Т. 20. - №6. — С. 392-402. [Dedov II, Shestakova MV, Peterkova VA, et al. Diabetes mellitus in children and adolescents according to the Federal diabetes registry in the Russian Federation: dynamics of major epidemiological characteristics for 2013–2016. *Diabetes mellitus.* 2017;20(6):392-402. (In Russ.)]. doi: https://doi.org/10.14341/DM9460.

3. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:16. Available from: URL: https://tgh.amegroups.org/article/view/5499/pdf (accessed: 20.01.2024).

4. Drozdz D, Alvarez-Pitti J, Wójcik M, et al. Obesity and Cardiometabolic Risk Factors: From Childhood to Adulthood. *Nutrients.* 2021;13(11):4176. doi: https://doi.org/10.3390/nu13114176.

5. Бокова Т. А. Неалкогольная жировая болезнь печени и основные компоненты метаболического синдрома у детей. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* - 2020. - №1. - С. 15–20. [Bokova T.A. Non-alcoholic fatty liver disease in children: relationship with the main components of metabolic syndrome in children. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;(1):15-20. (In Russ.)] doi: https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-173-1-15-20

6. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet*. 2010;42(11):937-948. doi:

https://doi.org/10.1038/ng.686.

7. Hebebrand J, Hinney A, Knoll N, Volckmar AL, Scherag A. Molecular genetic aspects of weight regulation. *Dtsch Arztebl Int*. 2013;110(19):338-344. doi: https://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0338.

8. Faccioli N, Poitou C, Clément K, Dubern B. Current Treatments for Patients with Genetic Obesity. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2023;15(2):108-119. doi: https://doi.org/10.4274/jcrpe.galenos.2023.2023-3-2.

9. Andrulionyte L, Kuulasmaa T, Chiasson JL, Laakso M; STOP-NIDDM Study Group. Single nucleotide polymorphisms of the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene (PPARA) influence the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *Diabetes*. 2007;56(4):1181-1186. doi: https://doi.org/10.2337/db06-1110.

10. Ortega-Meléndez AI, Montero-Molina S, Jiménez-Ortega RF, et al. PPARα polymorphisms association with total cholesterol and LDL-C levels in a Mexican population. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26(6):2158-2164. doi: https://doi.org/10.26355/eurrev_202203_28363.

11. Flavell DM, Ireland H, Stephens JW, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene variation influences age of onset and progression of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(2):582-586. doi: https://doi.org/10.2337/diabetes.54.2.582.

12. Дрибноходова О. П., Миронов К. О., Корчагин В. И. и др. Характеристика 48 полиморфных локусов - потенциальных маркеров риска развития ишемического инсульта // *Генетика.* – 2017. – Т. 53, № 6. – С. 716-721. [Dribnokhodova O. P., Mironov K. O., Korchagin V. I. et al. Characterization of 48 polymorphic loci as potential markers for the risk of ischemic stroke // *Russian Journal of Genetics*. – 2017. – Vol. 53, No. 6. – P. 698-702. (In Russ.)] doi: https://doi.org/10.7868/S0016675817060042.

13. Миронов К. О., Дунаева Е. А., Дрибноходова О. П., Шипулин Г. А. Опыт использования систем генетического анализа на основе технологии пиросеквенирования // *Справочник заведующего КДЛ.* – 2016. – № 5. – С. 33-43. [Mironov K. O., Dunaeva E. A., Dribnohodova O. P., SHipulin G. A. Opyt ispol'zovaniya sistem geneticheskogo analiza na osnove tekhnologii pirosekvenirovaniya // *Spravochnik zaveduyushchego KDL.* – 2016. – № 5. – С. 33-43. (In Russ.)].

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

15. González JR, Armengol L, Solé X, et al. SNPassoc: an R package to perform whole

genome association studies. *Bioinformatics*. 2007;23(5):644-645. doi: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Бевз Анна Сергеевна, [**Anna S. Bevz**]; адрес: Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2 [address: 61/2 Shepkina street. 129110 Moscow, Russia]; телефон: 8 (985) 400 51 67; **ORCID:** 0000-0002-4954-4872; **eLibrary SPIN:** 2455-5589; **e-mail:** bevz.imik@gmail.com.

Бокова Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, доцент [Tatyana A. Bokova, Doctor of Medical Sciences]; **e-mail:** bta2304@mail.ru; **ORCID:** 0000-0001-6428-7424; **eLibrary SPIN:** 3740-1734.

Дрибноходова Ольга Павловна, кандидат биологических наук [Olga P. Dribnokhodova, PhD]; **e-mail: dribnokhodova@cmd.su**; **ORCID:** 0000-0003-4918-4907; **eLibrary SPIN:** 8513-7531.

Корчагин Виталий Иванович, кандидат биологических наук [Vitaly I. Korchagin, PhD]; **e-mail: korchagin@cmd.su**; **ORCID:** 0000-0003-2264-6294; **eLibrary SPIN:** 4420-1095.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ НА ЭТАПЕ ДИАГНОСТИКИ

Т.А. Бикмухаметов, А.Р. Хамидулина, А.И. Садриева, Ё.С. Курбанова

Научный руководитель: профессор, д.м.н. С.Я. Волгина

Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

Введение. Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является наиболее распространенным злокачественным заболеванием системы кроветворения в детской популяции, составляя около 25% от всех злокачественных опухолей в возрасте до 18 лет и встречается с частотой 4 случая на 100 000 детского населения [1]. Хорошо известно, что сроки диагностики острых лейкозов в значительной степени определяют прогноз заболевания. Учитывая тот факт, что первичные симптомы скрываются под «масками» других заболеваний, изучение ранних проявлений ОЛЛ у детей приобретает важное практическое значение [2].

Цель исследования. Изучить особенности клинического течения ОЛЛ у детей.

Материалы и методы. Проведено когортное ретроспективное продольное одноцентровое исследование 49 пациентов с впервые диагностированным ОЛЛ, в том числе, 23 мальчиков (47%) и 26 девочек (53%) в возрасте от 1 года до 17 лет за период с 2021 – 2023 год, которое проводилось на базе отделения онкогематологии стационара.

Изучались жалобы, анамнестические сведения, клинические характеристики, лабораторно – инструментальные данные при обращении пациентов в медицинскую организацию до и после постановки диагноза ОЛЛ. Оценка физического развития детей проводилась по показателям массы, роста, индексу массы тела (ИМТ) с учетом Z – score.

Для анализа полученных данных использовались следующие статистические методы – процентное соотношение, среднее арифметическое, стандартное отклонение, медиана с межквартильным диапазоном (IQR), критерий Стьюдента.

Было получено добровольное информированное согласие законных представителей пациентов.

Результаты исследования

В ходе исследования получено, что средний возраст пациентов на момент постановки диагноза оказался 6 ± 3,9 лет (число детей в возрасте от 1 до 3 лет 26,5%, от 4 до 6 лет 24,5%, от 7 до 10 лет 36,7%, от 11 до 17 лет 12,2%). Среднее время постановки диагноза ОЛЛ составляло 42,4 дня (от 3 до 201). Было зарегистрировано, что 81,5% пациентов проживали в городской местности, 16,3% - в сельской местности, 2% - прибыли из Таджикистана.

При изучении анамнеза заболевания выявлено, что 18,4% пациентов имели отягощенный наследственный анамнез по онкологическим заболеваниям.

В результате проведенного исследования получено, что наиболее часто встречающимися первичными жалобами возникновения ОЛЛ и при госпитализации в онкогематологическое отделение были: лихорадка – 69,4 и 53,1% соответственно (субфебрильная – 19,0 и 33,3%, фебрильная – 33,3 и 28,6%, пиретическая – 9,5 и 9,5%) ($p<0,05$), слабость – 40,8 и 51,02% ($p<0,05$), боли в костях и суставах – 34,6 и 36,8% ($p<0,05$), катаральные явления – 24,5 и 16,4% ($p<0,05$), геморрагические проявления – 24,5 и 42,9%($p<0,05$), снижение аппетита – 14,3 и 22,5%, диспепсические явления – 12,2 и 12,2%, боли в животе – 10,2 и 6,1% , увеличение лимфатических узлов – 10,2 и 40,8% ($p<0,05$). Соответственно 6,1 и 12,2% жалоб не предъявляли (табл. 1).

Таблица 1

Основные клинико-лабораторные характеристики у детей с ОЛЛ при первичном обращении в поликлинику и после установления окончательного диагноза

Показатели n = 49	При первичном обращении Абсолютное значение (%)	После постановки диагноза Абсолютное значение (%)
Жалобы: Лихорадка	34 (69,4) *	26 (53,1)
Слабость	20 (40,8) *	25 (51,0)
Боли в суставах и костях	17 (34,6)	18 (36,8)
Кашель, насморк	12 (24,5) *	8 (16,4)
Геморрагическая сыпь, кровотечения	12 (24,5) *	21 (42,9)
Снижение аппетита, отказ от еды	7 (14,3) *	11 (22,5)
Тошнота, рвота	6 (12,2)	6 (12,2)
Боли в животе	5 (10,2)	3 (6,1)
Лимфаденопатия	5 (10,2) *	20 (40,8)
Отсутствуют	3 (6,1)	6 (12,2)
Индекс массы тела Норма	–**	20 (45,4)
Дефицит массы тела I степени	–**	13 (29,5)
II степени	–**	3 (6,7)
Избыток массы тела I степени	–**	8 (18)
Количество лейкоцитов: Медиана: 13,3 IQR: 0,62 – 666,1 <4 x 10^9 /л	11 (27,5)	14 (32,6)
4 – 49,9 x 10^9 /л	18 (45)	19 (44,1)
>= 50 x 10^9 /л	11 (27,5)	10 (23,3)
Уровень гемоглобина: Медиана: 90 IQR: 37 – 130 <70 г/л	5 (13,9)	7 (15,9)
70 – 100 г/л	22 (61,1)	24 (54,5)
100 – 115 г/л	9 (25)	13 (29,5)

Количество тромбоцитов: Медиана: 50 IQR: 9 – 256 <50 х 10^9 /л	18 (45) *	25 (56,8)
50 – 150 х 10^9 /л	16 (40) *	14 (31,8)
150 – 200 х 10^9 /л	6 (15)	5 (11,4)
Уровень лактатдегидрогеназы Медиана: 567 IQR: 276 – 8950 250 – 1000 Ед/л	–**	17 (80,9)
> 1000 Ед/л	–**	4 (19,0)

* – достоверность разницы показателей, p <0,05; **– показатели не определялись

При первичном обращении в поликлинику и при госпитализации в онкогематологическое отделение регистрировались следующие ведущие синдромы: интоксикационный – 71,4% и 51,02% (p <0,05) соответственно, анемический – 38,8% и 63,26% (p <0,05); геморрагический – 28,6% и 51,02% (p <0,05); болевой – 32,7% и 24,9%; гиперпластический – 14,28% и 67,34% (p <0,05), неврологические нарушения – 4,1% и 4,1%.

Оценка физического развития показала, что 45,4% пациентов имели нормальный ИМТ, 29,5% – дефицит массы тела I степени (z – score -1; -2), 6,7% – дефицит массы тела II степени (-2; -3), 18,4% – избыточную массу тела I степени (+1; +2) (табл.1).

Изучение лабораторных анализов свидетельствовало о том, что в общем анализе крови при первичном обращении в поликлинику и при поступлении в стационар отмечались: лейкоцитоз – 44,9 и 79,6% (от 10,2 до 666,1 х 10^9/л) (p<0,05); тромбоцитопения –73,5 и 85,7% (от 9 до 138 х 10^9/л) (p<0,05); анемия – 73,5 и 79,6% (уровень гемоглобина колебался от 37 до 110 г/л); лимфоцитоз – 28,6 и 32,7% (от 5,1 до 33,3 х10^9/л), лейкопения 20,4 и 22,5% (0,62-3,5 х10^9/л), повышение СОЭ – 32,7 и 48,0% (от 18 до 78 мм/ч) (p<0,05), бластные клетки 16,4 и 51,02% (p<0,05) (от 2 до 95%) (табл.1).

У 48,9% пациентов при поступлении в стационар исследовали лактатдегидрогеназу. Данный показатель был повышен у всех обследуемых и колебался от 276 до 8950 Ед/л (табл.1).

Разнообразие неспецифических клинических симптомов и синдромов способствовало формированию ошибочных диагнозов. Так 22,4% пациентов первоначально наблюдались с диагнозом ОРВИ, 10,2% - лимфаденопатия, 8,1% - тромбоцитопенией не ясного генеза, 4,1% - компрессионным переломом, по 2,0% - с острым тонзиллитом, диффузными заболеваниями соединительной ткани, пищевая аллергией, гемофагоцитарным синдромом, ассоциируемым с вирус Эпштейн – Барр инфекции, бактериальным гингивитом, острой пневмонией и хроническим остеомиелитом. Подозрение на острый лейкоз было отмечено только в 20,4% случаев.

Таким образом, в ходе исследования выявлено, что преобладающим контингентом пациентов с диагностированным ОЛЛ были девочки младшего школьного возраста, проживающие в городской местности. У половины пациентов отмечалась лихорадка, у трети – слабость, у четверти – боли в суставах и костях. До постановки диагноза преобладали интоксикационный и анемический синдромы. Избыточную массу тела имели 18,4% детей, дефицит массы тела 36,2% пациентов. При поступлении в онкогематологическое отделение нарастали геморрагический и лимфопролиферативный синдромы. Показатели крови (лейкоцитоз, тромбоцитопения, анемия) в динамике наблюдения значительно ухудшались. До постановки окончательного диагноза дети наблюдались с различными заболеваниями, среди которых преобладали ОРВИ, лимфоаденопатия, тромбоцитопения неясного генеза.

Выводы. Ранняя диагностика ОЛЛ представляет определенные сложности в связи с наличием распространенного клинического полиморфизма. У трети пациентов с неспецифическими симптомами, с недостаточно полным клинико–лабораторным и инструментальным обследованием отмечалась поздняя диагностика заболевания. Онкологическая настороженность врачей всех специальностей с комплексным подходом оценки состояния здоровья детей позволит ускорить диагностический процесс и своевременно начать патогенетическую терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Острый лимфобластный лейкоз. Клинические рекомендации. – 2020. – 73 с.

2. Ahmad I, Ghafoor T, Ullah A, Naz S, Tahir M, Ahmed S, Arshad A, Ali A, Khattack TA, Batool F. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Clinical Characteristics, Treatment Outcomes, and Prognostic Factors: 10 Years' Experience from a Low- and Middle-Income Country. JCO Glob Oncol. 2023 Jun;9: e2200288. doi: 10.1200/GO.22.00288. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37290024/

ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ВИТАМИНОМ D, ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАТЕЛИЦИДИНА И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА ФОНЕ ПРИЁМА НЕДОНОШЕННЫМИ ДЕТЬМИ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА

Н.Е. Верисокина[1,2], М.А. Петросян[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ставрополь, Россия

[2]ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр», Ставрополь, Россия

Дети, появившиеся на свет раньше срока, в подавляющем большинстве случаев имеют гиповитаминоз D [1, 2]. Связь гиповитаминоза D с инфекционной заболеваемостью и более неблагоприятным прогнозом течения инфекционного процесса заставляет обратить внимание на необходимость его медикаментозной коррекции с момента рождения, руководствуясь как повышением активности факторов врождённого иммунитета, так и влиянием витамина D на другие органы и системы [3, 4, 5].

В нашей стране до настоящего времени отсутствуют клинические рекомендации, где была бы указана дозировка препаратов холекальциферола для эффективной и безопасной профилактики гиповитаминоза D у недоношенных новорождённых с рождения.

Европейское общество детских гастроэнтерологов гепатологов и нутрициологов (ESPGHAN) рекомендует назначать 800–1000 МЕ/сут независимо от массы тела, срока гестации и сезона рождения [6]. В последние годы опубликовано несколько важных результатов работ американских и европейских авторов, демонстрирующих эффект назначения холекальциферола недоношенным детям с первых дней жизни [7, 8, 9].

Цель работы – анализ эффективности профилактики и коррекции гиповитаминоза D у недоношенных детей и влияния курса терапии холекальциферолом на уровень экспрессии провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α) и кателицидина.

Материалы и методы

Проведено клинико-антропометрическое и лабораторное обследование 135 недоношенных детей, рожденных с сентября 2020 г. по апрель 2021 г. в ГБУЗ СК «СККПЦ №1» г. Ставрополя. Дети, которые вошли в исследование, находились в отделении реанимации и интенсивной терапии.

На 1-е сутки жизни 57 недоношенным новорождённым было проведено определение 25(OH)D, LL-37, ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α в сыворотке крови. Младенцы были разделены на 2 группы: 33 (57,9%) ребёнка, появившиеся на свет раньше срока, получали 1000 МЕ/сут холекальциферола ежедневно (per os), 24 (42,1%) ребёнка не получали витамин D. Всем детям

спустя три недели проводился забор крови с последующим определением показателей в сыворотке крови.

Определение содержания 25(OH)D в сыворотке крови у детей проводилось методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-систем производства Euroimmun (Германия).

Концентрации ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α в полученной сыворотке крови новорождённых детей определяли методом ИФА с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Определение концентрации антимикробного пептида кателицидина в полученной сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием тест-систем производства Hycult Biotech (Нидерланды).

Оценка полученных результатов уровня витамина D осуществлялась согласно критериям, отраженным в Национальной программе «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» (2021) [10]. Для оценки концентрации ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α, LL-37 общепринятых норм нет.

Для оценки концентрации ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α общепринятых норм нет (минимальная определяемая концентраця 0,5 пг/мл).

Для оценки концентрации LL-37 нет общепринятых референсных значений (минимальная определяемая концентраця 0,01 нг/мл).

Результаты исследования

Путём ОКС на свет появились 78 (57,8%) младенцев, через естественные родовые пути – 57 (42,2%). Мальчиков было 76 (56,3%), девочек 59 (43,7%). Младенцев с ЭНМТ было 21 (15,6%), с ОНМТ – 43 (31,9%), с НМТ – 66 (48,9%), 5 (3,6%) новорождённых имели массу тела более 2500 граммов.

В таблице 1 представлены основные клинико-антропометрические показатели недоношенных новорождённых.

Таблица 1. Клинико-антропометрическая характеристика недоношенных новорождённых

Показатель	**Недоношенные новорождённые,** n = 135
Срок гестации, недель	31,0 [29,0; 33,0]
Масса, граммов	1580 [1150; 1980]
Рост, см	41,0 [37,0; 45,0]
Окружность головы, см	30,0 [27,0; 32,0]

ОША 1, баллов	7,0 [4,0; 7,0]
ОША 5, баллов	8,0 [5,0; 8,0]

Основные антропометрические показатели соответствуют данным недоношенных новорождённых. Медиана срока гестации составила 31,0 [29,0; 33,0] неделя, медиана массы тела при рождении – 1580 [1150; 1980] граммов.

В раннем неонатальном периоде умерли 7 (70,0%) детей, в позднем – 3 (30,0%) ребёнка. Среди 10 умерших детей в 90,0% случаев причиной смерти стал инфекционный процесс (ВУИ, сепсис, врождённая пневмония), 1 (10%) младенец умер от внутрижелудочкового кровоизлияния 3 степени.

Новорождённые дети, появившиеся на свет раньше срока, имели дефицит витамина D, медиана концентрации кальцидиола в сыворотке крови в этой группе составила 18,4 [12,3;23,1] нг/мл.

На рисунке 1 представлена структура обеспеченности витамином D недоношенных детей.

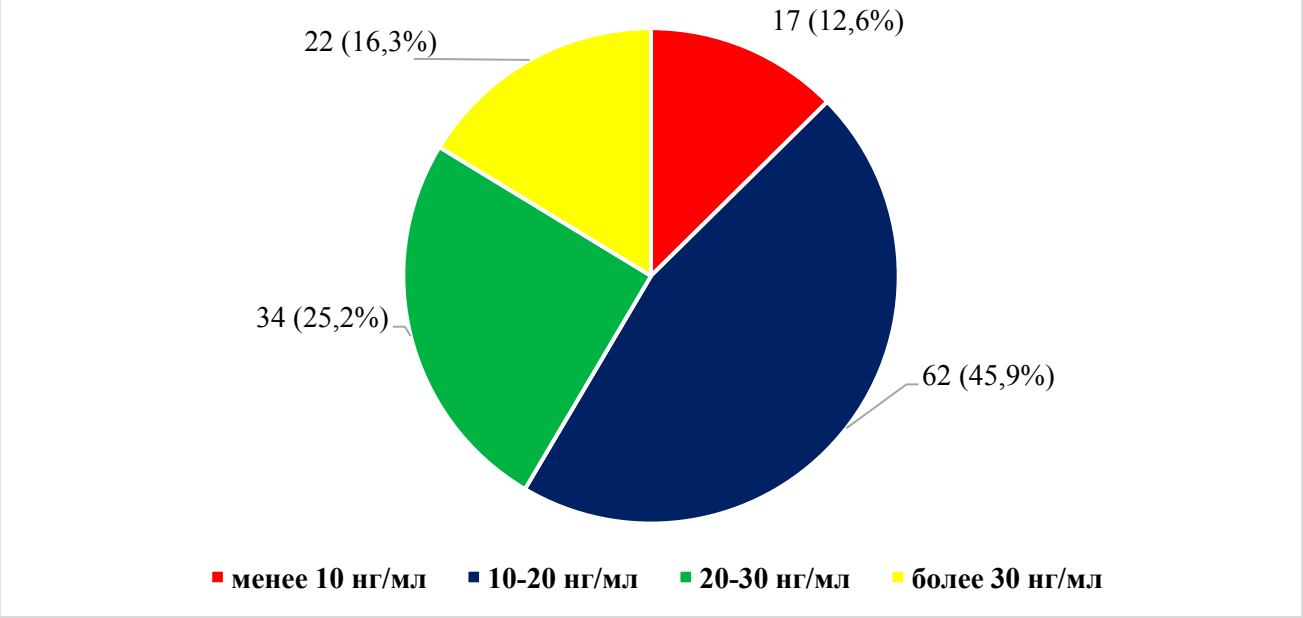


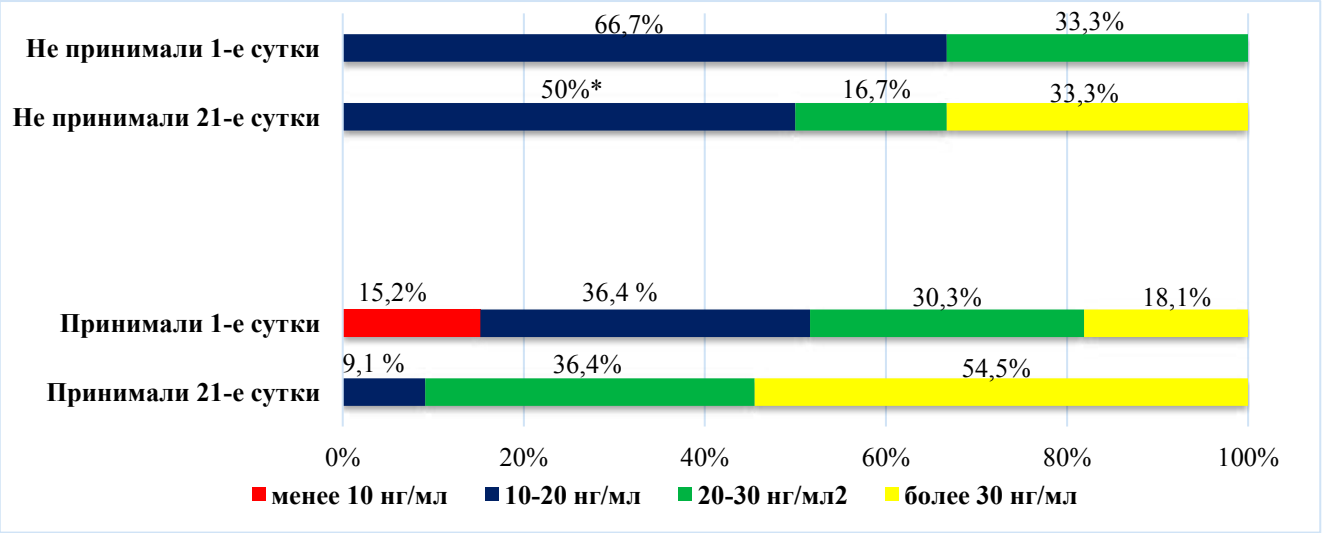
Рисунок 1. Обеспеченность витамином D недоношенных новорождённых

Анализируя данные по структуре обеспеченности витамином D в анализируемой группе , было выявлено, что 17 (12,6%) недоношенных детей имели тяжёлый дефицит витамина D, дефицит – 62 (45,9%), недостаточность – 34 (25,2%) ребёнка, оптимальная концентрация 25(OH)D в сыворотке крови определялась лишь у 22 (16,3%) младенцев. Как известно, недоношенные новорождённые входят в группу риска по развитию дефицита витамина D, неонатальной остеопении и последующего формирования метаболической болезни костей

недоношенных, что подтверждается полученными данными – дефицит витамина D имели 58,5% детей.

Медиана концентрации 25(OH)D в сыворотке крови до приёма препаратов витамина D составила 19,1 [11,9; 22,4] нг/мл, а после трехнедельного приёма холекальциферола – 34,1 [22,1; 47,2] нг/мл (p=0,019). В контрольной группе на 1-е сутки жизни концентрация 25(OH)D – 17,5 [14,9; 22,4], через 3 недели – 20,0 [17,8; 41,9] нг/мл (p=0,145).

На рисунке 2 представлены данные об обеспеченности витамином D недоношенных новорождённых до приема препаратов витамина D и спустя 3 недели.



*-p<0,05 при сравнении показателя с таковым в группе принимавших ХКФ (критерий Пирсона)

Рисунок 2. Структура обеспеченности витамином D недоношенных новорождённых, принимавших и не принимавших холекальциферол

Анализ полученных данных, демонстрирует, что в группе недоношенных новорождённых, не принимавших холекальциферол, дефицит витамина D на 1-е сутки был выявлен у 16 (66,7%) новорождённых, а в группе детей, принимавших холекальциферол, – у 17 (51,6%) младенцев.

Спустя 3 недели частота дефицита витамина D изменилась. В группе новорождённых, не получавших 25(OH)D, у 12 (50,0%) детей сохранялся дефицит. Дефицит витамина D в группе детей, получавших холекальциферол, наблюдался лишь в 3 (9,1%) случаях. Дети, не получавшие ХКФ имели статистически значимо чаще дефицит витамина D, чем недоношенные новорождённые получавшие ХКФ (p=0,001).

Следует отметить, что в группе детей, получавших препараты витамина D, увеличилось количество младенцев, имевших показатель кальцидиола более 30 нг/мл (оптимальная концентрация) – 18 (54,5%) новорождённых, в то время как в группе детей, не получавших

холекальциферол доля детей с оптимальной концентрацией витамина D, изменилась незначительно – 8 (33,3%) младенцев.

По прошествии трёх недель приёма холекальциферола был проведён подробный анализ динамики цитокинов и кателицидина в сыворотке крови. В таблице 2 представлены данные динамики ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α и LL-37 в сыворотке крови.

Таблица 2. Динамика концентрации провоспалительных цитокинов и LL-37 в сыворотке крови на фоне дотации холекальциферола у недоношенных детей

Лабораторные показатели	**Недоношенные дети, принимавшие прапараты ХКФ**		**Недоношенные дети, не принимавшие прапараты ХКФ**	
	1-е сутки, n = 33	**21-е сутки,** n = 33	**1-е сутки,** n = 24	**21-е сутки,** n =24
Кателицидин, нг/мл	0,08 [0,02; 0,17]	0,18** [0,11; 0,23]	0,09 [0,03; 0,2]	0,06 [0,04; 0,1]
ИЛ-1β, пг/мл	4,8 [2,3; 7,5]	3,1* [1,5; 5,6]	6,0 [1,0; 9,0]	7,3 [5,8; 8,5]
ИЛ-6, пг/мл	12,8 [7,9; 25,0]	9,1* [5,8; 14,1]	24,1 [10,1; 67,1]	11,4^ [5,4;11,5]
ФНО-α, пг/мл	9,0 [7,2; 10,0]	6,6 ** [5,6; 8,3]	6,2 [6,0; 6,2]	7,1 [6,0; 10,3]

Примечание:
* - p<0,05 при сравнении показателя с детьми до приема;
** - p<0,01 при сравнении показателя с детьми до приема;
^ - p<0,05 при сравнении показателя с детьми, не принимавшими (все показатели критерий Манна-Уитни)

На фоне трёхнедельного курса приёма холекальциферола вместе с увеличением концентрации 25(OH)D в сыворотке крови статистически значимо снижались показатели ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α в сыворотке крови (p=0,046, p=0,031, p=0,001 соответственно), также происходит закономерно статистически значимое увеличение LL-37 в сыворотке крови (p=0,001).

Был проведён анализ концентрации кальцидиола и кателицидина в сыворотке крови у детей в зависимости от массы тела при рождении (рис. 3). Младенцы с ОНМТ до приема препаратов витамина D имели медиану концентрации 25(OH)D в сыворотке крови 18,4 [12,9; 22,4] нг/мл, что статистически значимо ниже, чем у детей после приема 1000 МЕ/сут - 25,1 [21,8; 36,6] нг/мл (p=0,042), аналогичные данные были получены при анализе концентрации LL-37 в сыворотке крови – 0,069 [0,02; 0,09] нг/мл и 0,11 [0,1; 0,16] нг/мл (p=0,04) соответственно.

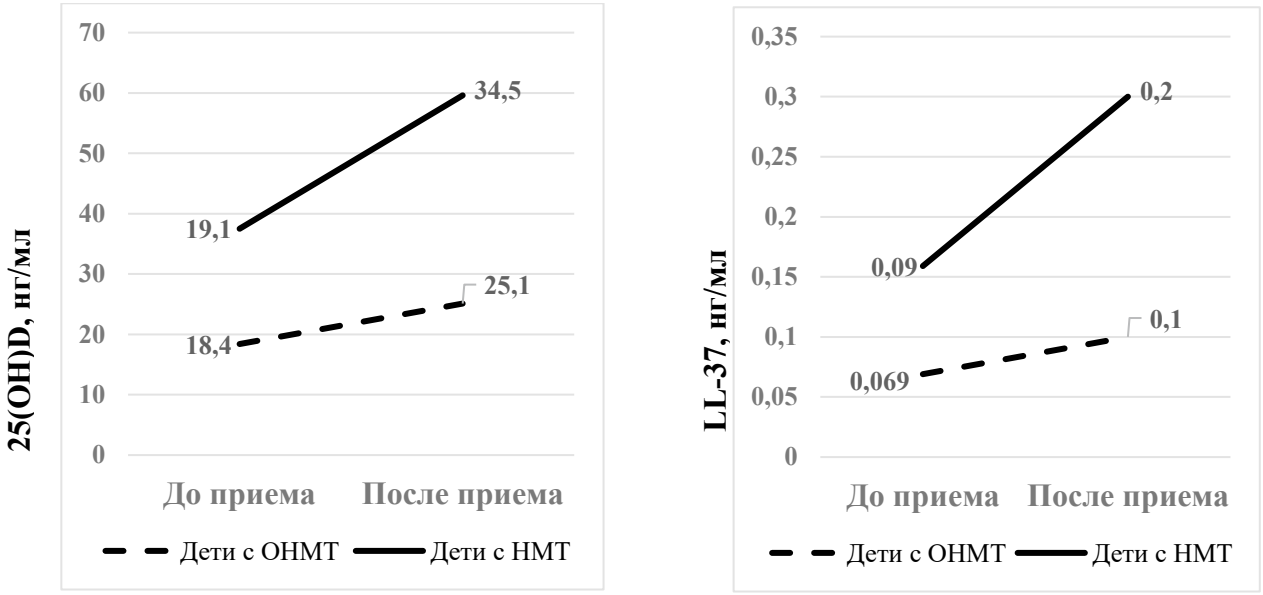


Рисунок 3. Анализ концентрации кальцидиола и кателицидина в сыворотке крови у детей в зависимости от массы тела при рождении до и на фоне трёхнедельного курса холекальциферола в дозе 1000 МЕ/сут

В группе недоношенных с НМТ на фоне трёхнедельного курса приёма холекальциферола произошло увеличение показателя витамина D в сыворотке крови с 19,1 [11,1;20,5] нг/мл до 34,5 [22,3;46,4] нг/мл (p=0,001). Соответствующие данные были получены и при анализе концентрации LL-37 в сыворотке крови - 0,09 [0,01;0,16] нг/мл и 0,2 [0,15;0,2] нг/мл (p=0,012) соответственно.

Крайне важным является также сравнительный анализ динамики прироста кальцидиола на фоне приёма холекальциферола детьми с различной массой тела, отражающей различный гестационный возраст и степень зрелости путей метаболизации витамина D к моменту рождения. Недоношенные с НМТ и с ОНМТ на 1-е сутки жизни не имели различий в исходной концентрации 25(OH)D в сыворотке крови – 19,1 нг/мл и 18,4 нг/мл (p=0,362). Через три недели приёма в группе детей с НМТ показатель вырос в 1,8 раза (p=0,003), а у детей с ОНМТ – лишь в 1,4 раза (p=0,04).

По итогам трёхнедельного курса профилактического приёма холекальциферола концентрация 25(OH)D в сыворотке крови в группе более зрелых детей с НМТ стала статистически значимо превосходить таковую у детей с ОНМТ – 34,5 нг/мл и 25,1 нг/мл соответственно (p=0,032). Совершенно очевидно, что степень зрелости к моменту рождения определяет и активность ферментов печени, участвующих в первом этапе метаболизации холекальциферола. По-видимому, витамин D-зависимая экспрессия антимикробных пептидов, в частности, LL-37, подвержена сходной закономерности, однако различия в концентрации

кателицидина после курса профилактического приёма у детей с НМТ и ОНМТ статистически не столь значимы (p=0,057).

В анализируемой нами группе недоношенных новорождённых дотация 1000 МЕ/сут привела к снижению ИЛ-1β в сыворотке крови в 72,7% случаев, к снижению ИЛ-6 – в 84,8% и в 90,9% – к снижению уровня ФНО-α в сыворотке крови. Показатель LL-37 в сыворотке крови на фоне приёма холекальциферола повышался в 78,8% случаев.

Заключение

Недоношенные новорождённые более чем в половине случаев имеют дефицит витамина D (менее 20 нг/мл) в сыворотке крови – 58,5%, недостаточность (20 – 30 нг/мл) – в 25,2% случаях, и лишь у 16,3% детей концентрация 25(OH)D в сыворотке крови соответствует показателю нормальной обеспеченности. Недоношенные дети с ЭНМТ имеют статистически значимо более низкую концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови в сравнении с недоношенными с ОНМТ и НМТ при рождении.

Схема лекарственной коррекции гиповитаминоза D у недоношенных детей, использованная в исследовании, показывает высокий уровень эффективности, что подтверждается повышением медианы кальцидиола сыворотки крови на фоне трёхнедельного приёма раствора холекальциферола.

Доза холекальциферола 1000 МЕ/сут является абсолютно безопасной для недоношенного ребёнка, так как никто из младенцев, получавших холекальциферол, спустя 3 недели не имел показатель 25(OH)D, превышающий концентрации 100 нг/мл.

В группе недоношенных новорождённых, принимавших 1000 МЕ/сутки холекальциферола, в 84,8% случаев отмечается прирост концентрации кальцидиола, лишь 15,2% детей не имели прирост.

На фоне трёхнедельного курса приёма холекальциферола, вместе с увеличением концентрации 25(OH)D в сыворотке крови, статистически значимо снижались показатели ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α и статистически значимо увеличивался показатель LL-37 в сыворотке крови. Дотация 1000 МЕ/сут приводит к снижению ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α в сыворотке крови в 72,7%, 84,8% и 90,9% случаев. Концентрация LL-37 в сыворотке крови на фоне приёма холекальциферола, наоборот, повышалась в 78,8% случаев.

Приём новорождёнными холекальциферола в дозе 1000 МЕ/сут является оптимальной и безопасной дозой для повышения до рекомендуемых референсных значений концентрации кальцидиола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заячникова, Т.Е. Дефицит витамина D в системе «мать–плацента–плод» как фактор риска нарушений физического и неврологического развития у недоношенных детей / Т.Е. Заячникова, Э.Б. Белан, А.С. Красильникова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2019. – № 5. – С. 20–25.
2. Zmijewski, M.A. Vitamin D and human health / M.A. Zmijewski // Int J Mol Sci. – 2019. – Vol. 20 (1). – P. 145.
3. Mailhot, G. Vitamin D and immunity in infants and children / G. Mailhot, J.H. White // Nutrients. – 2020. – Vol.12 (5). – P. 1233.
4. Sotunde, O.F. Maternal risk factors and newborn infant vitamin D status: a scoping literature review / O.F. Sotunde, A. Laliberte, H.A. Weiler // Nutr Res. – 2019. – Vol. 63. – P. 1–20.
5. Ozdemir, A.A. Neonatal vitamin D status and the risk of neonatal sepsis / A.A. Ozdemir, Y. Cag // Pak J Med Sci. – 2019. – Vol. 35 (2). – P. 420–425.
6. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition / C. Agostoni, G. Buonocore, V.P. Carnielli [et al.] // J Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2010. – Vol. 50 (1). – P. 85–91.
7. Mediators in preterm infants with late-onset sepsis: a randomized controlled trial / H. Abdel-Hady, S. Yahia, A. Megahed [et al.] // J Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2019. – Vol. 68 (4). – P. 578-584.
8. Vitamin D status of very low birth weight infants at birth and the effects of generally recommended supplementation on their vitamin D levels at discharge / T. Matejek, M. Navratilova, L. Zaloudkova [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2020. – Vol. 33 (22). – P. 3784-3790.
9. Pfotenhauer, K.M. Vitamin D Deficiency, its role in health and disease, and current supplementation recommendations / K.M. Pfotenhauer, J.H. Shubrook // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2017. – Vol. 117 (5). – P. 301–305.
10. Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции: Национальная программа / Союз педиатров России [и др.]. – М.: ПедиатрЪ, 2018. – 96 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНА КАК МАРКЕРА АБКМ У ДЕТЕЙ ДО 6 МЕСЯЦЕВ

Д.К. Дмитриева, И.Н. Захарова

ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия

Цель: оценка применимости анализа на фекальный кальпротектин как маркера пищевой аллергии к белку коровьего молока у детей до 6 месяцев.

Задачи: изучить изменение параметра фекальный кальпротектин в динамике (0, 45 день) на детях до 6 месяцев с проявлениями пищевой аллергии к белку коровьего молока, в группах с пробиотиком и без пробиотика, и на группе здоровых детей.

Результаты: промежуточные результаты исследования, проведенные на 142 пациентах обеих полов в возрасте до 6 месяцев, из которых 49 пациентов получали пробиотическую терапию, 62 – пробиотическую терапию не получали, и 31 пациент группы здорового контроля, продемонстрировали статистически значимое увеличение фекального кальпротектина в группе детей с пищевой аллергией, с дальнейшим снижением на фоне диеты и пробиотической терапии.

Выводы: фекальный кальпротектин является достаточно надежным маркером пищевой аллергии к белку коровьего молока в группе детей до 6 месяцев и может быть рекомендован к использованию в клинической практике.

Как в мире, так и в Российской Федерации отмечается тенденция к росту аллергических заболеваний, с темпами роста, соответствующими эпидемии. В структуре этиологических факторов пищевой аллергии у детей первого года жизни преобладает аллергия к белкам коровьего молока (АБКМ), по данным Европейской Академии аллергологии и клинической иммунологии, распространенность ее составляет от 4,2% у детей первого года жизни, у детей 2-5 лет - 3,75% [1]. Предполагается, что возросшая частота аллергических заболеваний является результатом генетической предрасположенности, воздействия факторов окружающей среды, включая аллергены, загрязнение воздуха, инфекции, а также генно-средовых взаимодействий [2].

На фекальный кальпротектин как на маркер, который может отражать выраженность и даже предсказывать [3] пищевую аллергию, обратили внимание сравнительно недавно. Уровень концентрации фекального кальпротектина прямо пропорционален количеству лейкоцитов,

мигрирующих в стенку кишечника. Продукты деградации активированных нейтрофилов обнаруживаются в фекалиях, и благодаря стабильности и устойчивости к протеолизу фекальный кальпротектин является надежным маркером кишечного воспаления. Фекальный кальпротектин определяется при помощи быстрого, не требующего высоких затрат и легко воспроизводимого твердофазного иммуноферментного анализа, следовательно, анализ на концентрацию фекального кальпротектина в настоящее время можно использовать в качестве недорогого, неинвазивного, чувствительного маркера заболеваний кишечника, биоматериал для которого можно замораживать и хранить длительное время, что является дополнительным преимуществом по сравнению с другими методами исследований [4].

В 2011 году в ходе проведенных исследований было обнаружено, что уровень фекального кальпротектина у младенцев с пищевой аллергией в два раза превышает уровень, полученных от младенцев без пищевой аллергии. Изучение младенцев с аллергией на белок коровьего молока и здоровых младенцев показало аналогичные результаты: средний уровень кальпротектина у здоровых младенцев составил 141 мкг/г (в диапазоне 41-373 мкг/г), у детей с аллергией – 410 мкг/г (в диапазоне 168-1739 мкг/г), что значительно превышало уровень фекального кальпротектина в здоровой группе ($z=-9{,}335$, $p<0{,}001$). Через восемь недель диетического вмешательства в виде исключения белка коровьего молока в питании матери у детей, находящихся на исключительно грудном вскармливании, и замены молочной смеси на смесь на основе полного гидролиза белка либо аминокислотную смесь у детей на искусственном вскармливании, среднее значение фекального кальпротектина составило 160 мкг/г (в диапазоне 34-699 мкг/г), что коррелировало с облегчением клинической симптоматики [5]. Таким образом, значение фекального кальпротектина четко отражало уровень кишечного воспаления у детей с пищевой аллергией до и после диетического вмешательства ($z=-8{,}173$, $p<0{,}001$) [6].

В данной публикации приведены промежуточные результаты исследования, посвященного микробиоте кишечника у детей с пищевой аллергией. Фекальный кальпротектин использовался как дополнительный маркер пищевой аллергии к белку коровьего молока.

Представлены результаты исследования, проведенного на 142 пациентах обоих полов: 31 человек контрольной выборки (Здоровые), 111 человек с проявлениями пищевой аллергии, которая разделена на 2 группы: получающие пробиотическую терапию 49 человек и без - 62 человека. Динамические показатели оценивались на первом и втором визитах.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью, критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в двух связанных группах, использовался критерий Уилкоксона. Сравнение бинарных показателей, характеризующих две связанные совокупности, выполнялось с помощью теста МакНемара.

Анализ динамики группы "Кальпротектин" в зависимости от показателя "Группа"

Группа	Этапы наблюдения				p
	Кальпротектин		Кальпротектин_1		
	Me	$Q_1 – Q_3$	Me	$Q_1 – Q_3$	
Заболевшие без пробиотика	192,4 (n=61)	67,2 – 463,2	120,0 (n=61)	38,6 – 295,1	0,044*
Заболевшие + пробиотик	333,5 (n=48)	105,4 – 683,6	184,2 (n=48)	62,5 – 390,3	0,013*
Здоровые	199,2 (n=31)	124,4 – 598,9	183,0 (n=31)	114,8 – 427,8	0,272
p	0,241		0,150		–

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

В процессе анализа в группе «Заболевшие без пробиотика» нами были выявлены статистически значимые изменения ($p = 0,044$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). Анализ показал, что в группе «Заболевшие + пробиотик» были выявлены статистически значимые изменения ($p = 0,013$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). В ходе анализа в группе «Здоровые» нам не удалось выявить статистически значимых изменений ($p = 0,272$) (используемый метод: критерий Уилкоксона).

Оценка зависимости показателя "Кальпротектин" от количественных факторов была выполнена с помощью метода линейной регрессии. Число наблюдений составило 61.

Анализ показателя "Кальпротектин" в зависимости от показателя "Возраст (дней)"

	B	Стд. ошибка	t	p
Intercept	1091,445	288,586	3,782	< 0,001*
Возраст (дней)	-5,112	2,216	-2,307	0,025*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Наблюдаемая зависимость показателя "Кальпротектин" от показателя "Возраст (дней)" описывается уравнением линейной регрессии:

$$Y_{\text{Кальпротектин}} = 1091{,}445 - 5{,}112X_{\text{Возраст (дней)}}$$

где Y – величина показателя "Кальпротектин", $X_{\text{Возраст (дней)}}$ – Возраст (дней)

При увеличении показателя "Возраст (дней)" на 1. следует ожидать уменьшение показателя "Кальпротектин" на 5,112.

Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0{,}288$, что соответствует слабой тесноте связи по шкале Чеддока. Модель была статистически значимой (p = 0,025). Полученная модель объясняет 8,3% наблюдаемой дисперсии показателя "Кальпротектин".

Оценка зависимости показателя "Кальпротектин" от количественных факторов была выполнена с помощью метода линейной регрессии. Число наблюдений составило 31.

Анализ показателя "Кальпротектин" в зависимости от показателя "Возраст (дней)"

	B	Стд. ошибка	t	p
Intercept	923,682	197,931	4,667	< 0,001*
Возраст (дней)	-4,498	1,657	-2,715	0,011*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Наблюдаемая зависимость показателя "Кальпротектин" от показателя "Возраст (дней)" описывается уравнением линейной регрессии:

$$Y_{\text{Кальпротектин}} = 923{,}682 - 4{,}498X_{\text{Возраст (дней)}}$$

где Y – величина показателя "Кальпротектин", $X_{\text{Возраст (дней)}}$ – Возраст (дней)

При увеличении показателя "Возраст (дней)" на 1. следует ожидать уменьшение показателя "Кальпротектин" на 4,498.

Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0{,}450$, что соответствует умеренной тесноте связи по шкале Чеддока. Модель была статистически значимой ($p = 0{,}011$). Полученная модель объясняет 20,3% наблюдаемой дисперсии показателя "Кальпротектин".

Выводы

1. Фекальный кальпротектин может выступать маркером пищевой аллергии к белку коровьего молока в группе детей до 6 месяцев.

2. Кальпротектин эффективнее снижался в группе с пробиотиком относительно группы без пробиотика.

3. Взросление влияет на снижение показателя по кальпротектину, но в группе контроля влияние возраста составляет 20,3%, а в группе с нозологией без пробиотика влияние возраста меньше - 8,3%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Muraro A., Hoffmann-Sommergruber K., EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group, 2014г
2. Mastrorilli C., Caffarelli C., Hoffmann-Sommergruber K., 2017г
3. Kukkonen K, Kuitunen M, Haahtela T, Korpela R, Poussa T, Savilahti E. High intestinal IgA associates with reduced risk of IgE-associated allergic diseases. Pediatr Allergy Immunol. 2010;21:67–73. doi: 10.1111/j.1399-3038.2009.00907.x.
4. Lee YW, Lee KM, Lee JM, Chung YY, Kim DB, Kim YJ, Chung WC, Paik CN. The usefulness of fecal calprotectin in assessing inflammatory bowel disease activity. Crit Rev Clin Lab Sci. 2019;34(1):72–80.
5. Beşer OF, Sancak S, Erkan T, Kutlu T, Cokuğraş H, Cokuğraş F. Can fecal calprotectin level be used as a markers of inflammation in the diagnosis and follow-up of cow's milk protein allergy? Allergy, Asthma Immunol Res. 2014;6(1):33–38
6. Qiu L, Wang J, Ren F, Shen L, Li F. Can fecal calprotectin levels be used to monitor infant milk protein allergies? Allergy Asthma Clin Immunol. 2021 Dec 13;17(1):132. doi: 10.1186/s13223-021-00636-0. PMID: 34903286; PMCID: PMC8670270.

НОВЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ТЕМПЕРАТУРЫ У ДЕТЕЙ С COVID-19 И ДРУГИМИ ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Д.С. Колушкин, врач-педиатр

Детская городская клиническая больница имени З.А. Башляевой ДЗМ

Dmitry Sergeyevich Kolushkin, pediatrician

Children's Municipal Clinical Hospital named after Z.A. Bashlyaeva

Введение

Повышение температуры у детей представляет собой один из наиболее распространенных клинических признаков, который часто вызывает беспокойство у педиатров и родителей. Родители проявляют повышенную тревожность, что может привести к неразумному использованию жаропонижающих средств даже при минимальном повышении температуры или ее отсутствии, поскольку им важно поддерживать "нормальную" температуру у ребенка [1]. Кроме того, распространено нерациональное применение антипиретиков родителями, оценивающими температуру на основе тактильного воздействия на кожу ребенка, что является субъективным методом с низкой специфичностью [2].

Оценка вероятности осложнений у больных с лихорадкой в первую очередь зависит от абсолютной высоты температуры и продолжительности ее удержания на высоких уровнях. В связи с несовершенством терморегуляции у детей, особенно в раннем возрасте, контроль высоты и длительности лихорадки играет ключевую роль.[3]

Цель исследования: оценить эффективность суточного мониторинга температуры тела у детей с коронавирусной инфекцией COVID-19 и другими острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРИ) с помощью термографа медицинского «ТЕМПИК».

Вначале исследования были высказаны несколько ***гипотез***:

Круглосуточный мониторинг температуры тела ребенка в периоде острого инфекционного заболевания позволяет: оптимизировать жаропонижающую терапию, позволяет получить данные о характере температурной кривой в группе ОРИ и группе детей с новой коронавирусной инфекцией.

Цель исследования: оценить эффективность суточного мониторинга температуры тела у детей с коронавирусной инфекцией COVID-19 (далее – COVID-19) и другими острыми респираторными вирусными инфекциями (далее – ОРИ) с помощью термографа медицинского «ТЕМПИК».

Задачи исследования:

1. Провести сравнительную оценку эффективности суточного мониторинга температуры тела у детей с COVID-19 и другими ОРИ с помощью термографа ТЕМПИК и с помощью галинстанового термометра.

2. Оценить характер и особенности температурной кривой, формируемой термографом ТЕМПИК при COVID-19 и других ОРИ.

3. Оценить влияние применения термографа ТЕМПИК на объем жаропонижающей терапии.

4. Оценить безопасность и удобство применения термографа ТЕМПИК.

Клиническиое исследования проведенно на двух клинических базах кафедры педиатрии имени академика Г.Н. Сперанского Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования: Химкинская областная больница (141400, Московская область, Химки, Ленинский проспект, д. 14) и Детская городская клиническая больница имени З.А. Башляевой (125373, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 28).

Методы и материалы: в исследование включены 120 детей в возрасте от 3 месяцев и 3 лет, разделенные 4 группы.

Таблица 1.

Группы	ОРИ		COVID-19	
	Галистановый термометр	**Темпик + галистановый термометр**	**Галистановый термометр**	**Темпик + Галистановый термометр**
	Группа 1	**Группа 2**	**Группа 3**	**Группа 4**
	n-30	n-30	n-30	n-30

Исследование включало детей в возрасте от 3 месяцев до 3 лет, у которых была лихорадка, при условии, что их родители дали согласие после информирования и имели устройства (смартфоны или iPhone) с функцией Bluetooth. Распределение детей по отделениям производилось непосредственно в приемном отделении на основе результатов теста на COVID-19. Использование термографа "ТЕМПИК" начиналось с момента госпитализации детей, если у них была лихорадка. Термограф можно было применять у детей любого возраста, ограничением была только длина ремешка. В нашем исследовании особое внимание уделялось детям первых трех лет жизни.

Группы 2 и 4 были подвергнуты мониторингу температуры тела детей при помощи галинового термометра, одновременно с круглосуточным мониторингом термографом "Темпик". Учитывая результаты исследования 2001 года, которое выявило расхождение показаний электронных термометров по сравнению с ртутными (галиновыми) [4], мы сравнили показания групп 2 и 4 в определенные часы контроля.

В рамках задачи 1 была проведена сравнительная оценка эффективности круглосуточного мониторинга температуры тела у детей с COVID-19 и острыми респираторными инфекциями (ОРИ) с использованием термографа "ТЕМПИК" и галинового термометра.

Для сравнения были сформированы соответствующие группы наблюдения: в основных группах температура регистрировалась в установленные временные точки контроля - 08:00, 15:00, 22:00 - с помощью термографа "ТЕМПИК" и галинового термометра (результаты вносились в индивидуальную карту участника исследования), в то время как контрольные группы использовали только галиновый термометр в те же установленные часы и по запросу.

Сравнительный анализ температурных данных, полученных с помощью галинового термометра и термографа "ТЕМПИК" у одного пациента (выбранного случайным образом), представлен на рисунке 1. Среднее отклонение температуры в каждой из

указанных групп не превышает 0,03°C. Среднее отклонение температуры у отдельных пациентов в группах "COVID-19-O" и "ОРИ-О" также не превышает 0,09°C.

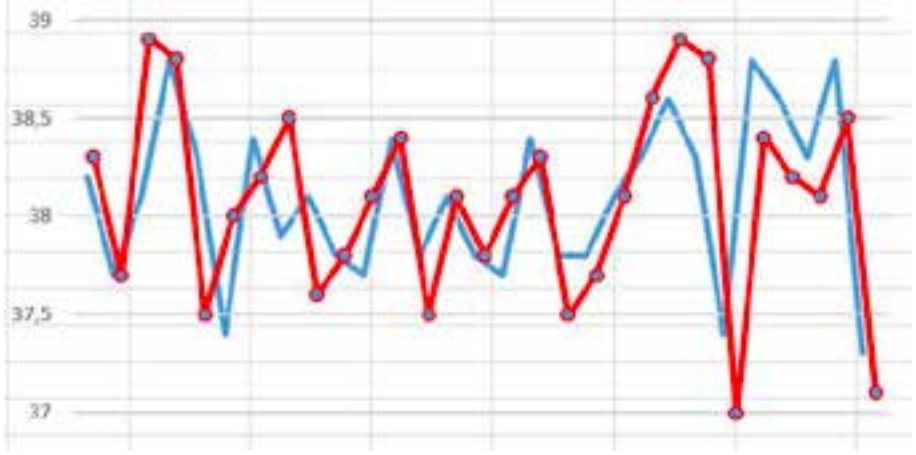


Рисунок 1 демонстрирует график температурной динамики одного ребенка из 2 группы. В течение 15 часов наблюдения проводилось сравнение данных о температуре, полученных с помощью термографа "ТЕМПИК", и измерений, проведенных с использованием галинового термометра. Интервал контроля составлял 30 минут. На графике представлены данные термографа (синий) и галинового термометра (красный).

Температурная кривая, полученная с помощью термографа "ТЕМПИК", отражала ту же динамику температуры, что и точки контроля. Значения температуры непрерывно регистрировались термографом "ТЕМПИК" (см. **рисунок 2**), в отличие от галинового термометра, который измерял температуру только в определенные моменты времени.

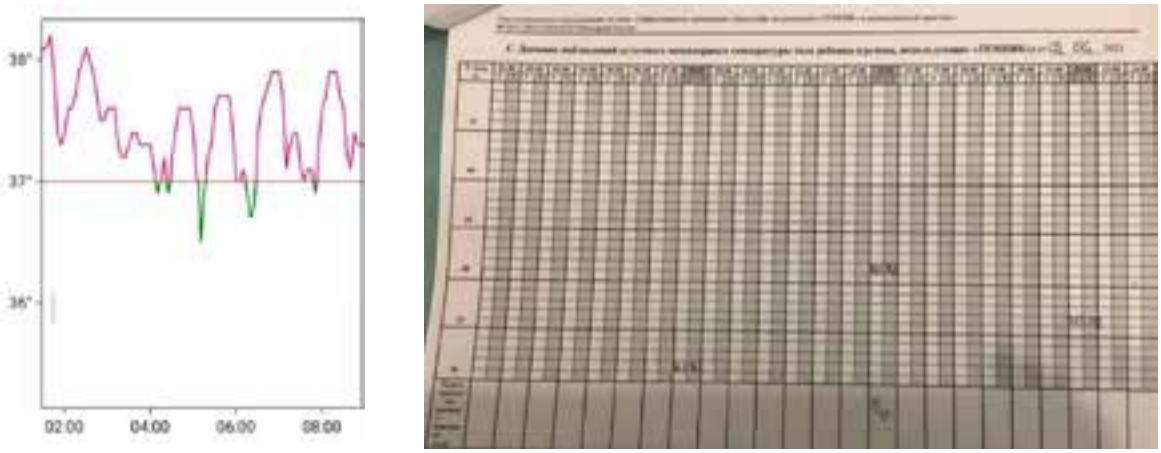


Рисунок 2. Пример постоянного мониторинга и фиксированной термометрии в определенное время

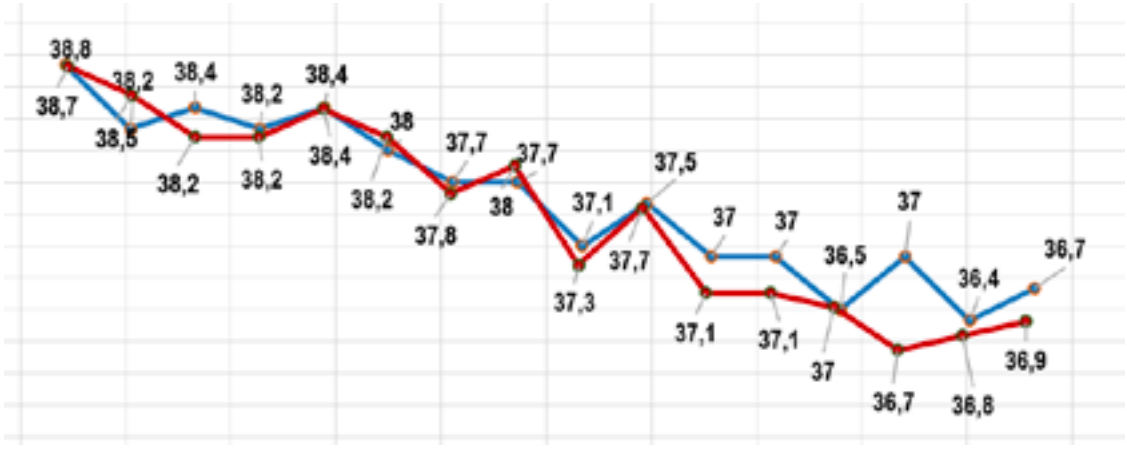


Рисунок 3 отображает график динамики температуры у одного ребенка из 4 группы в течение 60 часов. Данные температурной кривой термографа "ТЕМПИК" были сопоставимы с измерениями температуры, проведенными с использованием галинового термометра. Интервал контроля составлял 4 часа. На графике представлены данные термографа (голубой) и галинового термометра (красный).

Полученные данные подтверждают высокую достоверность показаний цифрового термографа "ТЕМПИК" по сравнению с галиновым термометром как для детей с острыми респираторными инфекциями (ОРИ), так и для тех, у кого выявлена новая коронавирусная инфекция. Графики на рисунках 2 и 3 ясно демонстрируют полное соответствие результатов термометрии за 15 и 60 часов контроля.

Согласно задаче 2 нашего исследования, была выдвинута гипотеза о возможности использования термографа "ТЕМПИК" для получения данных о характере температурных кривых при COVID-19 и других острых респираторных инфекциях, что позволит дальнейшую клиническую оценку и выявление особенностей лихорадки при указанных заболеваниях.
В медицинской литературе существует классификация типов лихорадки, которая ранее была полезна для предположений об этиологии инфекции. Однако с появлением антибактериальных препаратов ценность этой классификации стала незначительной, и в настоящее время она имеет минимальное практическое применение.

Согласно задаче 2, не удалось выявить какие-либо особенности температурной кривой при острых респираторных инфекциях (ОРИ) и COVID-19. На рисунке 4 представлены температурные кривые, которые были графически зафиксированы термографом "ТЕМПИК" во 2 и 4 группах.

Рисунок 4. Сравнение температурных кривых у ребенка с ОРИ (оранжевый цвет) и у ребенка с новой коронавирусной инфекцией (зеленый цвет) за трое суток. Контрольные точки температуры 9, 12, 15, 18, 21, 24 часа.

Одной из целей было оценить воздействие использования термографа "ТЕМПИК" на объем применяемой жаропонижающей терапии.

Жаропонижающие препараты назначались на основе данных о температуре тела, измеренной термометром, при превышении 38,5ºС во всех группах. В группе 2, у 19 пациентов с ОРИ, вечерний профилактический прием жаропонижающих препаратов при температуре 38,2–38,4ºС был отменен в результате круглосуточного мониторинга температуры. В группе 4, с COVID-19, у 15 пациентов также был отменен вечерний прием жаропонижающих препаратов в профилактических целях.

Однако в этих группах пациентов применение жаропонижающих препаратов происходило позже, в ночное время, по сигналу о критическом повышении температуры тела. При оценке общего объема применяемой жаропонижающей терапии в течение суток не выявлено значимых изменений в дозировке. Дозировка жаропонижающих препаратов не превышала рекомендуемые максимальные суточные значения для детей по возрасту и весу.

В группах пациентов с COVID-19 (группы 3 и 4) только у 5 пациентов количество приемов жаропонижающих препаратов было на 1 меньше, чем у остальных пациентов этих групп, и суточный объем жаропонижающих препаратов был на 10% меньше, но это различие не было статистически значимым.

Следует отметить, что круглосуточный мониторинг температуры позволил оптимизировать применение жаропонижающих препаратов, используя их только в случае критического повышения температуры (по сигналу). Это позволяет более длительно наблюдать за ребенком с лихорадкой, особенно в группе детей с повышенным риском фебрильных судорог.
реимущество термографа "ТЕМПИК" заключается в возможности индивидуальной коррекции критических данных по повышению температуры тела, учитывая преморбидный фон каждого ребенка. В основных группах применение жаропонижающего препарата осуществлялось сразу после звукового оповещения о критическом повышении температуры, что обеспечивает своевременную реакцию на изменения состояния ребенка.

Это позволяет предотвратить переход от "розовой" лихорадки к "белой" и, следовательно, избежать осложнений.

Оценка безопасности и удобства использования термографа "ТЕМПИК" показала, что в редких случаях наблюдались кратковременные разрывы соединений температурной кривой (не более 10 эпизодов измерений за все время наблюдения у всех пользователей) на небольшие временные промежутки (см. рисунок 5).

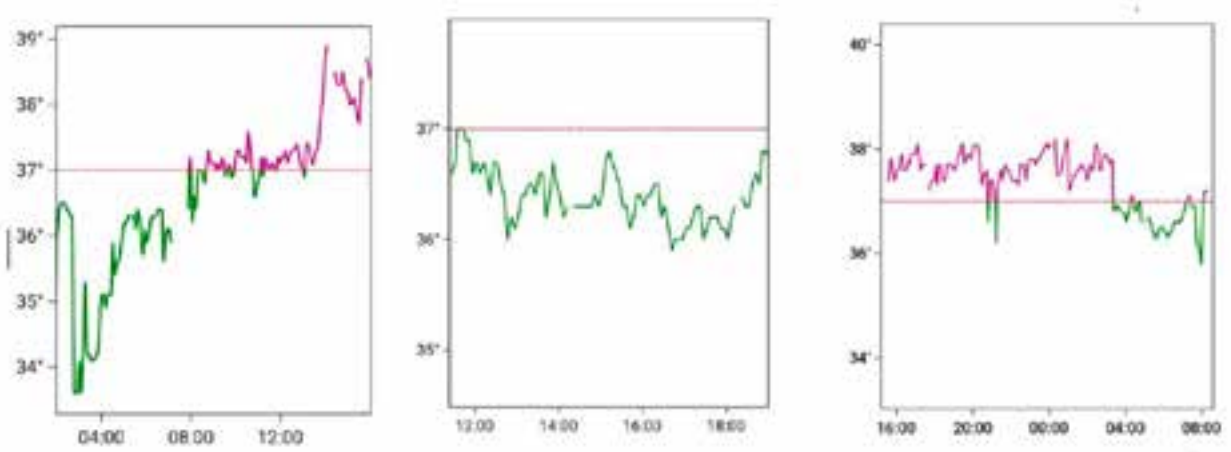


Рисунок 5. Пример кратковременного разрыва соединения, который не требовал вмешательства

Из результатов опроса родителей о применении термографа "ТЕМПИК" для суточного контроля температуры тела у детей следует, что более чем в 95% случаев прибор был оценен как "очень хороший", "очень удобный" и "комфортный". Только 4 человека из 60 оценили удобство и качество прибора на 4 балла, остальные 93% считали его "отличным".

При рассмотрении причин негативных ответов родителей, они высказывали недовольство из-за того, что "прибор новый и непонятный", "раньше таких приборов не использовали", "сомнения в точности измерений из-за его размеров", "привыкли к обычному градуснику", "некоторые электронные приборы часто показывают неправильные результаты".

Вопросы о понятности использования приложения не вызвали замечаний у родителей. Отмечается, что тревога за ребенка во время использования термографа "ТЕМПИК" сохранялась лишь у 4 из 60 родителей (6,67%).

В целом, использование термографа "ТЕМПИК" с приложением Tempick для суточного мониторирования температуры тела у детей демонстрировало удобство, безопасность и комфорт для родителей. Это также снизило уровень тревожности и позволило своевременно применять жаропонижающие препараты только при фактическом повышении температуры.

Выводы

1. Термограф "ТЕМПИК" обеспечивает качественный и достоверный контроль температуры у детей, что позволяет оперативно реагировать на ее изменения. Выявленные ошибки в измерениях не имеют статистической значимости и могут быть пренебрежены.

2. Термограф "ТЕМПИК" позволяет индивидуально устанавливать критические значения температуры тела, учитывая преморбидный фон каждого ребенка, особенно важно для группы детей с высоким риском фебрильных судорог и микроциркуляторных нарушений, чтобы предотвратить возможные осложнения.
3. Ориентирование на звуковой сигнал о критическом повышении температуры тела позволяет применять жаропонижающие препараты только по необходимости, без профилактического назначения, что помогает предотвратить развитие осложнений типа перехода "розовой" лихорадки в "белую" и оптимизировать применение лекарств.
4. Использование термографа "ТЕМПИК" удобно, комфортно и безопасно для детей в течение длительного времени. В ходе исследования нежелательные эффекты не наблюдались.
5. Применение круглосуточного мониторирования температуры у детей с острыми инфекциями позволяет снизить тревожность родителей по поводу лихорадки в более чем 95% случаев.

Таким образом, исследование подтвердило гипотезы о безопасности, удобстве и простоте использования термографа "ТЕМПИК" для суточного контроля температуры у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sullivan JE, Farrar HC, et al; Section on Clinical Pharmacology and Therapeutics. Fever and Antipyretic Use in Children. Pediatrics. 2011;127(3):e20103852
2. Teng CL, Ng CJ, Nik-Sherina H, Zailinawati AH, Tong SF. The accuracy of mother's touch to detect fever in children: a systematic review. J Trop Pediatr. 2007;54:70–73
3. Verma N., Haji-Abolhassani I., Ganesh S., Vera-Aguilera J., Paludo J., Heitz R.et al. A Novel Wearable Device for Continuous Temperature Monitoring &Fever Detection. IEEE J Transl Eng Health Med. 2021;9:2700407.
4. Latman, N.S., Hans, P., Nicholson L., Delete Int, S., Lewis, K., Shirley A. Assessment and Technology. Biomedical Devices and Technologies. 2001; 35 (4): 259-65.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ТЕЧЕНИЕ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И УРОВЕНЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ У ДЕТЕЙ

Н.С. Конуркина[1,2], Н.А. Ильенкова[1], Е.Н. Бочанова[1]

[1]Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, Российская Федерация

[2]Красноярский научный центр СО РАН Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (НИИ МПС), Красноярск, Российская Федерация

Для корреспонденции: Конуркина Н.С. - аспирант кафедры детских болезней с курсом ПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России; контактный телефон - +79135561256; e-mail: nskonurkina@mail.ru; ORCID: 0000-0001-6511-5958

Внебольничная пневмония (ВП) остается в ряду наиболее актуальных болезней современного человека [1, 2]. В реальной практике постановка диагноза осложняется тем, что симптомы пневмонии часто неспецифичны и зависят от возраста ребенка и инфекционного агента, при этом лихорадка и кашель не всегда говорят в пользу пневмонии [3]. Только детальный анализ клинико-анамнестических данных и соблюдение алгоритма диагностики помогают предположить этиологию ВП и верифицировать ее.

Период пандемии COVID-19 стал серьёзным испытанием для здравоохранения всего мира. Быстрое распространение SARS-CoV-2, недостаток клинических исследований и доказательной базы, частота развития осложнений привели к резкому увеличению использования антибиотиков во время пандемии [4-6]. Важную роль в процессе контроля и оптимизации использования антимикробных препаратов (АМП) играют фармакоэпидемиологические исследования, в рамках которых производится анализ потребления лекарственных средств (ЛС). Несмотря на статус международного стандарта, ATC/DDD методология имеет ряд ограничений, одним из которых является невозможность корректной оценки потребления лекарственных средств в педиатрической практике [7].

В рамках данной работы впервые был проведен анализ потребления АМП с использованием детской методологии ATC/DDD среди пациентов педиатрического профиля г.Красноярска.

Целью исследования стало изучить влияние пандемии COVID-19 на течение внебольничной пневмонии и уровень потребления антимикробных препаратов у детей.

Для реализации данной цели были поставлены задачи:

1. Провести фармакоэпидемиологический анализ потребления антимикробных препаратов в детских пульмонологических отделениях многопрофильных стационаров г.Красноярска с использованием педиатрической модификации ATC/DDD методологии.

2. Оценить влияние пандемии COVID-19 на структуру потребления антибиотиков в детских отделениях г. Красноярска.

3. Оценить клинические особенности течения патологии нижних дыхательных путей до и в период пандемии COVID-19 у детей с установленным диагнозом внебольничной пневмонии.

4. Провести анализ потребления антимикробных препаратов у детей с внебольничной пневмонией до и во время пандемии COVID-19.

Протокол исследования был одобрен на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО КрасГМУ 27.11.2020г (выписка из протокола № 102/2020).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы Microsoft Excel и IBM SPSS Statistics 25.0. Результаты номинальных признаков выражены в абсолютных числах с указанием долей (%). Для оценки различий использовали критерий $\chi 2$ Пирсона. Для количественных переменных с ненормальным типом распределения вычисляли описательные статистики: медиану, нижний и верхний квартили (Q1 и Q3 соответственно). Различия между двумя выборками количественных данных оценивались с помощью критерия Стьюдента (для данных, подчиняющихся закону нормального распределения) и критерия Манна–Уитни (для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, и для ранговых данных). Статистически достоверными считались различия при уровне значимости $p<0,05$.

Методология ATC/DDD является одним из основных методологических инструментов проведения фармакоэпидемиологических исследований, основанная на анатомо-терапевтическо-химической классификации ЛС и концепции установленных суточных доз.

Несмотря на то, что методология ATC/DDD является «золотым стандартом» в исследовании потребления ЛС, высокая вариабельность дозировок препаратов у детей в зависимости от возраста и/или массы тела приводит к невозможности корректной оценки потребления лекарственных средств в педиатрической практике [7].

На настоящий момент предпринята попытка оптимизировать методологию ATC/DDD для детей путем разработки скорректированных значений для групп системных антимикробных препаратов. В данной работе анализ проводился с использованием калькулятора AMRCalc, опубликованного на сайте www.antibiotic.ru. Итоговые результаты были получены в 2-х вариантах расчета – по детской и стандартной методологии.

Фармакоэпидемиологический анализ потребления АМП был проведен в двух педиатрических пульмонологических отделениях многопрофильных стационаров г.Красноярска. В структуре больных этих отделений ведущее место занимали пациенты с болезнями органов дыхания (более 60% пациентов). Анализируемый период охватывал год до пандемии COVID-19 и 3 года самой пандемии (2020-2022гг).

При сравнении результатов, полученных при расчете по стандартной и педиатрической системе, несмотря на общую тенденцию показателей, разница между уровнем потребления могла достигать более 40%: в 2020г – уровень потребления по стандартной методологии – 86,7 DDD/100 к/д, по детской методологии - 121,49 DDD/100 к/д (больше на 40,1%); в 2022г - по стандартной методологии – 88,34 DDD/100 к/д, по детской – 133,46 DDD/100 к/д (больше на 51,1%).

С началом пандемии отмечалось уменьшение количества пролеченных больных (с 2631 до 2126 человек). Несмотря на это, по результатам проведенного анализа уровень потребления антибактериальных препаратов с началом пандемии вырос на 69,5% (с 71,65 DDD/100 к/д в 2019г до 121,49 DDD/100 к/д в 2020г.)

При оценке влияния пандемии COVID-19 на структуру потребления антибиотиков в детских отделениях г. Красноярска, изменения также отмечались в отдельных группах АМП. Наиболее существенно вырос объем потребления макролидов с 29,48 DDD/100 к/д до 55,06 DDD/100 к/д, цефалоспоринов с 8,61 DDD/100 к/д до 14,83 DDD/100 к/д, пенициллинов с 23,25 DDD/100 к/д до 33,47 DDD/100 к/д, а также практически вдвое увеличилось потребление других групп антибактериальных препаратов.

С целью оценки клинических особенностей течения патологии нижних дыхательных путей до и в период пандемии COVID-19 у детей, нами был проведен ретроспективный анализ историй болезни детей с установленным диагнозом «внебольничная пневмония» в «доковидное» время -2019г (n= 52), а также историй болезни детей в период пандемии – 2020-2022гг. При этом в период пандемии выделялось 2 группы пациентов: с ВП на фоне подтвержденной новой коронавирусной инфекции (n=82) и с ВП отрицательными результатами на SARS-CoV-2 (n=151). Пациенты, находившиеся на лечении в «доковидное» время, были отнесены в первую группу, пациенты с ВП на фоне подтвержденной новой коронавирусной инфекции – во вторую группу, а дети с ВП и отрицательными результатами на COVID-19 – в 3 группу. Пациенты первой и третьей групп получали лечение в ранее описываемых педиатрических отделениях.

При изучении гендерных особенностей было установлено статистически незначимое преобладание мальчиков во всех группах наблюдения: в 1 группе – 53,8% (n=28), во 2 группе – 64,6% (n=53), в 3 группе – 52,9% (n=53) ($p_{1,2} = 0,513$; $p_{1,3} = 0,999$; $p_{2,3} = 0,236$).

При этом в возрастной структуре заболеваемости в первых двух группах наблюдения преобладали дети старше 7 лет в сравнении с 3 группой, где большинство детей были младше 7 летнего возраста (Таблица 1).

Таблица 1. Возрастная структура пациентов

Возрастная группа	**Пневмония в «доковидное» время, n = 52**	**Пневмония в период пандемии COVID-19 (+), n = 82**	**Пневмония в период пандемии COVID-19 (-), n = 151**	**Критерий достоверности**
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	
До 12 месяцев	2 (3,8%)	10 (12,2%)	5 (3,31%)	p1,2= 0,980 p1,3< 0,001 p2,3= 0,001
От 1 года до 3 лет 11 месяцев	12 (23,1%)	15 (18,3%)	72 (47,68%)	
От 4 лет до 6 лет 11 месяцев	9 (17,3%)	10 (12,2%)	40 (26,49%)	
От 7 лет до 11 лет 11 месяцев	14 (26,9%)	24 (29,3%)	16 (10,6%)	
От 12 лет до 17 лет 11 месяцев	15 (28,8%)	23 (28,0%)	17 (11,26%)	

Течение пневмонии в «доковидный» период, чаще оценивалось как среднетяжелое (78,8%) и тяжелое (21,2%), в отличие от пациентов с пневмонией на фоне коронавирусной инфекции (96,3% и 3,7% соответственно), p1,2= 0,003.

У пациентов с патологией нижних дыхательных путей на фоне COVID-19 температура тела в дебюте болезни оставалась нормальной или повышалась до субфебрильных цифр - 37,8 [36,9; 38,6] градусов, в сравнении с детьми первой и третьей групп, где у детей чаще отмечалась фебрильная лихорадка - 38,5 [38,0;39,0] и 38,5 [37,6;39,1] градусов, соответственно, p1,2= 0,001; p2,3= 0,003.

Одним из наиболее частых симптомов, отмечающихся у детей с ВП в «доковидное» время и у пациентов с ВП с отрицательным результатом на SARS-CoV-2, являлся влажный кашель – 40,4% (как в 1, так и в 3 группах), p1,2 <0,001; p2,3= 0,009, при этом у пациентов с ВП на фоне COVID-19 кашель отсутствовал – 57,3% (p1,2 <0,001; p2,3 <0,001) или был сухим – 35,4% (p1,2 = 0,826; p2,3 =0,451).

У детей с COVID-19 ассоциированной пневмонией также отмечались другие симптомы, которых не было у детей до пандемии: головная боль - 24,4% (n=20), p1,2 <0,001; покраснение и зуд в глазах - 15,9% (n=13), p1,2 = 0,009; сыпь на коже – 3,7% (n=3), p1,2 = 0,414; а также различные диспептические расстройства (диарея – 8,5% (n=7), p1,2 = 0,087; боль в животе – 7,3% (n=6), p1,2 = 0,132. Такие патогномоничные для COVID-19 симптомы, как потеря обоняния и вкуса – 6,1% (n=5), регистрировались преимущественно у детей старшего возраста.

Пандемия COVID-19 внесла изменения не только в оценку клинических данных, но и отразилась на терапевтических аспектах и потреблении лекарственных средств.

Использование антибактериальной терапии было отмечено во всех 3-х группах исследования у всех пациентов. Пациентам с ВП на фоне новой коронавирусной инфекции чаще назначались противовирусные препараты системного действия – 96,34% в сравнении с 3 группой – 4,64% (p2,3< 0,001) и 1 группой, где противовирусные препараты не были назначены ни одному пациенту (p1,2< 0,001). Муколитические средства статистически чаще использовались у пациентов с внебольничной пневмонией с отрицательными результатами на SARS-CoV-2 – 72,19% против 58,54% во 2 группе исследования (p2,3= 0,040). При этом у пациентов с пневмонией на фоне COVID-19 реже использовалась ингаляционная бронхолитическая терапия – 2,44% в сравнении с 23,08% в 1 группе и 26,5% во 2 группе (p1,2< 0,001; p2,3< 0,001).

При анализе потребления антимикробных препаратов у детей с внебольничной пневмонией до и во время пандемии COVID-19 было выявлено, что пациентам с пневмонией на фоне новой коронавирусной инфекции чаще были назначены антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов - 93,9% и макролидов – 82,93% в сравнении с пациентами первой группы, где и цефалоспорины, и макролиды были назначены в 19,23% (p1,2< 0,001). В третьей группе цефалоспорины были назначены 10,59% пациентов, макролиды – 6,62% пациентам (p2,3< 0,001). В первой и третьей группах препаратом выбора являлись пенициллины, в том числе и ингибитор-защищенные: 57,69% и 85,43%, соответственно, против 13,41% во 2 группе (p1,2< 0,001; p2,3< 0,001).

Таким образом, использование «педиатрической» модификации ATC/DDD методологии по сравнению со стандартной дает возможность получить значительно более точное представление об истинном потреблении системных АМП в детской популяции. Проведенный фармакоэпидемиологический анализ позволил установить увеличение общего объема потребления антибактериальных препаратов на фоне пандемии COVID-19 в 1,7 раза.

Наиболее существенно вырос объем потребления макролидов, цефалоспоринов и пенициллинов.

Течение внебольничной пневмонии до пандемии COVID-19 и ВП на фоне отрицательных результатов на SARS-CoV-2 характеризовалось среднетяжелым и тяжелым течением, сопровождалось подъемом температуры до фебрильных цифр и влажным кашлем. Клиническое течение патологии нижних дыхательных путей на фоне новой коронавирусной инфекции в период пандемии COVID-19 имело ряд особенностей. Были выявлены симптомы, которые отсутствовали у пациентов с пневмонией в «доковидное» время: головная боль, покраснение и зуд глаз, аносмия и нарушение вкуса, диспептические расстройства, миалгия и сыпь на коже. Заболевание протекало на фоне нормальной или субфебрильной температуры.

С началом периода пандемии отмечались изменения в структуре потребления АМП у детей с ВП. У пациентов с пневмонией на фоне новой коронавирусной инфекции в лечении чаще использовались антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов и макролидов в сравнении с пациентами с внебольничной пневмонией до пандемии и детьми с ВП с отрицательными результатами на SARS-CoV-2, где препаратом выбора являлись пенициллины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуцуляк С. А. Внебольничная пневмония у детей: учебное пособие. Иркутск: ИГМУ, 2020.
2. Wald E. R., Schmit K. M., Gusland D. Y. A Pediatric Infectious Disease Perspective on COVID-19. Clin Infect Dis. 2021; Т. 72, № 9: 1660-1666.
3. Rambaud-Althaus C., Althaus F., Genton B., D'Acremont V. Clinical features for diagnosis of pneumonia in children younger than 5 years: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2015; Published Online March 11, 2015.
4. Синопальников А.И. Пандемия COVID-19 - «пандемия» антибактериальной терапии. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021; 23 (1): 5-15. https://doi.org/10.36488/cmac.2021.1.5-15.
5. Козлов Р.С. Открытое письмо "О применении антибактериальных препаратов у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19", 2020г.
6. Зайцева С.В., Зайцева О.В., Локшина Э.Э. "Особенности диагностики и антибактериальной терапии внебольничной пневмонии у детей в период пандемии COVID-19". РМЖ. Мать и дитя. 2021; 4(1): 70-76. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-1-70-76.
7. Белькова Ю.А., Рачина С.А., Мищенко В.М., Козлов Р.С. "Разработка и валидация методологии оценки потребления антимикробных препаратов у детей в условиях стационара". Клин. фармакол. тер. 2017; 26 (5): 73-79.

АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ЛОКУСЕ RS699 ГЕНА AGT С УРОВНЕМ КРЕАТИНФОСФОКИНАЗЫ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Ю.В. Королева[1], Т.А. Бокова[1,2], О.П. Дрибноходова[3], К.О. Миронов[3]

[1]ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Россия

[2]ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

[3]ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Россия

Аннотация

***Обоснование*:** В последнее десятилетие во всем мире большое внимание уделяется изучению генетических маркеров, ассоциированных с различными видами физической нагрузки. Одним из генов, ассоциированным со скоростно-силовыми видами спорта, является ген ангиотензиногена (*AGT*). ***Цель исследования*:** установить частоты аллелей/генотипов полиморфизма rs699 гена *AGT* у детей с различным типом физической нагрузки, проживающих в Московском регионе, и определить его ассоциацию с уровнем общей креатинфосфокиназы (КФК). ***Методы*:** Проведено одномоментное одноцентровое нерандомизированное неконтролируемое исследование. В исследование включено 100 детей в возрасте от 7 до 17 лет, занимающихся различными видами спорта в школах олимпийского резерва: I группа – 47 детей с динамическим типом физической нагрузки, II группа - 53 ребенка со статической физической нагрузкой. Оценивался показатель общей КФК по данным биохимического анализа крови, полиморфизм rs699 гена *AGT*. ***Результаты*:** В I группе частота генотипов, содержащих аллель G составила 87,2%: гомозиготы GG – 25,5%; гетерозиготы AG – 61,7%. Генотип AA – у 12,8% детей. Частота аллеля G - 56,4%. Во II группе частота генотипов, содержащих аллель G - 66%: гомозиготы GG – 22,6%; гетерозиготы AG – 43,4%. Генотип AA – у 34% детей. Средний уровень КФК у носителей генотипа AA составил 238,38±12,34 ед/л и был выше, чем у носителей генотипов AG и GG (198,75±10,11 ед/л) на 19,9% при использовании доминантной модели анализа ассоциаций (p=0,043). Носители генотипа AA имеют более высокий уровень общей КФК. ***Заключение*:** Носители генотипа AG и GG имеют более низкий риск повышения активности в крови КФК по сравнению с носителями генотипа AA. Генотип GG ассоциирован с меньшим риском повышения общей КФК в ответ на интенсивную физическую нагрузку, а носители аллеля A требуют настороженности в связи с более высоким риском развития нарушений со стороны функционирования как миокарда, так и скелетной мускулатуры.

Ключевые слова: дети, физическая нагрузка, креатинфосфокиназа, полиморфизм, генотип.

ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM AT THE RS699 LOCUS OF THE *AGT* GENE WITH CREATINE PHOSPHOKINASE LEVELS IN CHILDREN WITH DIFFERENT TYPES OF PHYSICAL ACTIVITY

Y.V. Koroleva[1], T.A. Bokova[1,2], O.P. Dribnokhodova[3], K.O. Mironov[3]

[1]Moscow Regional Research Clinical Institute named after. M.F. Vladimirsky ("MONIKI")

[2] Russian National Research Medical University named after. N.I. Pirogov

[3] Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Abstract. In the last decade, much attention has been paid worldwide to the study of genetic markers associated with various types of physical activity. One of the genes associated with speed and strength sports is the angiotensinogen (*AGT*) gene. **The aim of the study** was to establish the frequencies of alleles/genotypes of the rs699 polymorphism of the *AGT* gene in children with different types of physical activity living in the Moscow region and to determine its association with the level of total creatine phosphokinase (CPK). **Methods**. A single-stage, single-center, non-randomized, uncontrolled study was conducted. The study included 100 children aged 7 to 17 years old engaged in various sports in Olympic reserve schools: Group I – 47 children with dynamic type of physical activity, group II - 53 children with static physical activity. The indicator of total CPK was evaluated according to biochemical blood analysis, polymorphism rs699 of the *AGT* gene. **Results**: In group I, the frequency of genotypes containing the G allele was 87.2%: GG homozygotes – 25.5%; AG heterozygotes – 61.7%. The AA genotype is found in 12.8% of children. The frequency of the G allele is 56.4%. In group II, the frequency of genotypes containing the G allele was 66%: GG homozygotes – 22.6%; AG heterozygotes – 43.4%. The AA genotype is found in 34% of children. The average CPK level in carriers of the AA genotype was 238.38±12.34 units/l and was higher than in carriers of the AG and GG genotypes (198.75±10.11 units/l) by 19.9% when using the dominant association analysis model (p=0.043). Carriers of the AA genotype have a higher level of total CK. **Conclusion**: Carriers of the AG and GG genotypes have a lower risk of increased activity in the blood of CPK compared with carriers of the AA genotype. The GG genotype is associated with a lower risk of an increase in total CK in response to intense physical activity, and carriers of the A allele require caution due to a higher risk of developing disorders in the functioning of both myocardium and skeletal muscles.

Key words: children, physical activity, creatine phosphokinase, polymorphism, genotype.

Обоснование

К настоящему времени обнаружено большое количество генетических маркеров, ассоциированных с выносливостью и со скоростно-силовыми видами спорта [1], к которым относится ген ангиотензиногена (AGT). Описаны его полиморфные варианты, одним из которых

является замена в кодирующем участке гена нуклеотида c.803T>C, rs699, приводящая к замене в позиции 268 пептидной цепи ангиотензиногена метионина на треонин (p.Met268Thr) и изменению свойств ангиотензиногена [2,3]. Данная замена ассоциирована с повышением уровня ангиотензина в крови, что может способствовать развитию заболеваний сердечно-сосудистой системы. С другой стороны, установлено, что повышенный уровень ангиотензина влияет на рост скелетной мускулатуры, что особенно важно при занятиях силовыми видами спорта [1,4].

Одним из биохимических показателей, тесно связанным с уровнем физической подготовки и состоянием мышечной ткани, является креатинфосфокиназа (КФК). Это фермент, являющийся катализатором образования высокоэнерготропного соединения креатинфосфата, содержится в клетках сердечной (изофермент КК-МВ) и скелетной (изофермент КК-ММ) мускулатуры, а также в головном мозге (изофермент КК-ВВ). Повышение активности общей КФК в крови не является специфичным, так как наблюдается при повреждении любых вышеперечисленных органов, однако у детей, занимающихся спортом, может быть маркером повреждения клеток сердечной и скелетных мышц, в том числе обусловленное неадекватной физической нагрузкой [5].

Цель исследования: установить частоты аллелей/генотипов полиморфизма rs699 гена *AGT* у детей с различным типом физической нагрузки, проживающих в Московском регионе, и определить его ассоциацию с уровнем общей креатинфосфокиназы.

Методы

Дизайн исследования

Одномоментное одноцентровое нерандомизированное неконтролируемое исследование.

Критерии соответствия

В исследование включено дети обоего пола в возрасте от 7 до 17 лет; занимающиеся различными видами спорта в школах олимпийского резерва. В зависимости от типа физической нагрузки выделялись группы: группа детей, занимающиеся видами спорта с преимущественно динамическим типом физической нагрузки и группа детей со статической физической нагрузкой [6]. У всех законных представителей пациентов было получено согласие на исследование, одобренное локальным этическим комитетом в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) и биомедицинской этики согласно Женевской конвенции о правах человека (1997 г.).

Условия проведения

Клиническое исследование и отбор пациентов проводились на базе Центра спортивной медицины ГБУЗ МО НИКИ детства г. Мытищи. Генотипирование образцов осуществлялось в ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии г. Москва.

Продолжительность исследования

Работа проведена в период с сентября по декабрь 2023 года.

Описание медицинского вмешательства

В рамках исследования проводилось определение уровня общей КФК в сыворотке крови. Забор крови осуществлялся утром натощак из кубитальной вены в объеме до 5 мл однократно. Для проведения молекулярно-генетического исследования образцы обезличенного остаточного биологического материала (венозная кровь) в специальных транспортных контейнерах в условиях ледяной бани доставлялись в ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Россия.

Исходы исследования

Основной исход исследования: основными исходами исследования считали показатели уровня КФК, частоту генотипов rs699.

Методы регистрации исходов

Определение уровня КФК проведено на биохимическом анализаторе Beckman Coulter AU 5800, США. Для расчета рисков повышения КФК были выделены две подгруппы: с нормальным уровнем общей КФК (35 детей), с повышенным уровнем КФК (65 детей). Генотипирование проводили с использованием образцов геномной ДНК, выделенной из крови с помощью набора «РИБО-преп» (ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии, Россия) методом ПЦР в режиме реального времени с конформационно-блокированными (LNA) зондами, аналогично методике [7]. При создании и апробации методики, для верификации результатов проводилось определение нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК, содержащих исследуемый полиморфизм, с помощью пиросеквенирования [8].

Этическая экспертиза

Исследование рассмотрено и одобрено независимым комитетом по этике при ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского от 31.08.2023г. (выписка из протокола заседания №12).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки: размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

Предобработку данных проводили в программе Microsoft Excel. Статистический анализ распределения частот аллелей и генотипов в выборках и оценку их ассоциации с КФК проводили в среде R с использованием стандартных функций для расчета критерия $\chi 2$ Пирсона и точного теста Фишера [9]. Для поиска ассоциации и расчёта отношения шансов (ОШ) использовали пакет SNPassoc [10]. Статистически значимыми считались результаты при значении $p<0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 100 детей-спортсменов обоих полов в возрасте 7-17 лет (13,3±2,45 лет): I группу составили 47 детей, занимающиеся видами спорта с преимущественно динамическим типом физической нагрузки (лыжи классические, бадминтон, футбол), II группу - 53 ребенка, имеющих статическую физическую нагрузку (боевые искусства, скалолазание). Для расчета рисков повышения КФК выделялись подгруппы: 35 детей - с нормальным уровнем общей КФК и 65 детей - с повышенным уровнем КФК.

Основные результаты исследования

Результаты исследования полиморфизма rs699 показали, что частота генотипов, содержащих аллель G, у обследованных детей составила 76%: гомозиготы GG - 24%, гетерозиготы AG - 52%. Генотип AA выявлен у 24% пациентов. Частота аллеля G - 50% (при анализе не учитывали пол и возраст пациентов). В I группе детей частота генотипов, содержащих аллель G составила 87,2%: гомозиготы GG – 25,5%; гетерозиготы AG – 61,7%. Генотип AA – 12,8%. Частота аллеля G составила 56,4%. Во II группе частота генотипов, содержащих аллель G составила 66%: гомозиготы GG – 22,6%; гетерозиготы AG – 43,4%. Генотип AA – 34%. Частота аллеля G - 44,3%.

Средний уровень КФК у носителей генотипа AA составил 238,38±12,34 ед/л и был выше, чем у носителей генотипов AG и GG на 19,9% (198,75±10,11 ед/л) при использовании доминантной модели анализа ассоциаций (p=0,043) (таблица 1).

Таблица 1. Ассоциация генотипов полиморфизма rs669 с уровнем общей КФК

ОНП	**n**	**M**	**SE**	**95% Д.И.**	**p**
Кодоминантная модель					
AA	24	238,4	12,34		0,083
AG	52	204,9	12,36	-73,47-6,39	
GG	24	185,5	17,61	-99,55-6,20	
Доминантная модель					
AA	24	238,4	12,34		0,043
AG-GG	76	198,8	10,11	-77,46-1,79	
Рецессивная модель					
AA-AG	76	215,4	9,43		0,127
GG	24	185,5	17,61	-68,13-8,24	

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; n – количество человек; M – среднее значение; SE – ошибка среднего; Д.И. – доверительный интервал; p – уровень значимости.

Анализ генотипов rs699 в группах с нормальным и повышенным уровнями КФК установил, что носители генотипа AG и GG имеют более низкий риск повышения активности в крови КФК по сравнению с носителями генотипа AA (p=0,0006, доминантная модель). Кроме того, генотип GG ассоциирован с более низким риском повышения КФК, чем генотип AG (p=0,0013, кодоминантная модель) (таблица 2).

Таблица 2. Значения отношения шансов (ОШ) для ОНП rs699 в зависимости от уровня общей КФК

ОНП	**Норма, n**	**Повышен, n**	**ОШ, 95% Д.И.**	**p**
Кодоминантная модель				
AA	2	22	1,00	0,0013
AG	20	32	0,15 (0,03-0,69)	
GG	13	11	0,08 (0,01-0,40)	
Доминантная модель				
AA	2	22	1,00	0,0006
AG-GG	33	43	0,12 (0,03-0,54)	
Рецессивная модель				
AA-AG	22	54	1,00	0,026
GG	13	11	0,34 (0,13-0,89)	

Нежелательные явления

Нежелательные явления в ходе исследования не зарегистрированы.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Частота генотипов, содержащих аллель G полиморфизма rs699 в гене AGT, у обследованных детей независимо от типа физической нагрузки, возраста и пола составила 76%, а частота аллеля G - 50%. У детей с динамической физической нагрузкой частота аллеля G составила 56%, генотипа AA – 13%. У детей со статической физической нагрузкой частота аллеля G - 44%, генотипа AA – 34%. Носители генотипа AA имеют более высокий уровень общей КФК. Генотип GG ассоциирован с меньшими рисками повышения общей КФК в ответ на интенсивную физическую нагрузку.

Обсуждение основного результата исследования

Установлено, что носительство полиморфных вариантов генов, ассоциированных с ренин-ангиотензиновой системой, связано с повышенным риском развития ряда мультифакториальных заболеваний, включая артериальную гипертензию [4]. Ген ангиотензиногена (AGT) картирован в той же области где и ген ренина - на 1 хромосоме в локусе 1q42. Ангиотензиноген является предшественником ангиотензина II – важного физиологического регулятора водно-солевого обмена и артериального давления.

Оценка ассоциации типа физической нагрузки и уровня КФК в зависимости от генотипов не представляется возможным в связи с малым объемом выборки и требует дальнейшей работы в данном направлении. Для более точной оценки влияния полиморфизма rs699 на показатели ангиотензиновой системы, переносимость различных типов физических нагрузок и определения возможности распространения полученных результатов на другие регионы необходимо проведение дополнительных исследований в других популяциях.

Генетическое тестирование полиморфизма rs699 может быть использовано в комплексном обследовании детей с целью повышения качества персонализированного подхода к выбору адекватной физической нагрузки и оптимизации тренировочного процесса, что будет способствовать росту спортивных результатов, снизит риск развития патологических состояний, включая физические недуги и тяжелые эмоциональные потрясения.

Ограничения исследования

Фактором, способным повлиять на достоверность результатов, является малый объем выборки.

Заключение

Для носителей аллеля А требуется настороженность в связи с более высоким риском развития нарушений со стороны функционирования миокарда и скелетной мускулатуры для своевременной коррекции уровня и интенсивности физической нагрузки.

Генетическое тестирование полиморфизма rs699 может быть использовано в комплексном обследовании детей с целью повышения качества персонализированного подхода к выбору вида спортивной дисциплины и оптимизации тренировочного процесса.

Источник финансирования

Работа (обследование пациентов, сбор материала) выполнена в рамках НИР №57 «Совершенствование подходов к профилактике и лечению ожирения у детей Московской области», номер регистрации 123030600011-5. Разработка и применение методик молекулярно-генетического исследования выполнялось в рамках темы НИОКР государственного задания «Изучение генетической предрасположенности к мультифакторным заболеваниям» (рег. № АААА-А21-121011890130-7).

Участие авторов

Королева Ю.В. - разработка концепции и дизайна исследования, сбор, анализ, статистическая обработка и интерпретация данных, поисково-аналитическая работа, написание текста рукописи, оформление статьи в печать;

Бокова Т.А. - разработка концепции и дизайна исследования, внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи;

Дрибноходова О.П. - молекулярно-генетические исследования, анализ, статистическая обработка и интерпретация данных, внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания;

Миронов К.О - внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи.

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmetov II, Fedotovskaya ON. Current Progress in Sports Genomics. // Adv Clin Chem. – 2015. - №70. - P. 247-314.
2. Dickson ME, Sigmund CD. Genetic basis of hypertension: revisiting angiotensinogen. // Hypertension. – 2007. - №48. – P.14-20.
3. Angiotensinogen polymorphisms and acquired atrialfibrillation in Chinese. / Q.S. Wang, Y.G. Li, X.D. Chen [et al.]. // J Electrocardiol. – 2010. – Vol.43. - №4. – P.373-77.
4. Ассоциации полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT, rs699) с артериальной гипертензией и ее факторами риска у жителей горной Шории. / Т. А. Мулерова, А. В. Понасенко, А. В. Цепокина [и др.]. // Российский кардиологический журнал. – 2017. - №10. – С.85-92.
5. Creatine kinase monitoring in sport medicine. / P. Brancaccio, N. Maffulli, F. M. Limongelli. // Br Med Bull. – 2007/ - №81-82. – P.209-230.
6. Task Force 8: classification of sports. / J. H. Mitchell, W. Haskell, P. Snell, S.P. Van Camp. // J Am Coll Cardiol. - 2005. – Vol.45. - №8. – P.1364-7.
7. Характеристика 48 полиморфных локусов-потенциальных маркеров риска развития ишемического инсульта / О. П. Дрибноходова, К. О. Миронов, В. И. Корчагин [и др.] // Генетика. – 2017. – Т. 53, № 6. – С. 716-721.

8. Опыт использования систем генетического анализа на основе технологии пиросеквенирования / К. О. Миронов, Е. А. Дунаева, О. П. Дрибноходова, Г. А. Шипулин // Справочник заведующего КДЛ. – 2016. – № 5. – С. 33-43.

9. The R Project for Statistical Computing. - URL: https://www.R-project.org/ (дата обращения 18.01.2024).

10. SNPassoc: An R Package to Perform Whole Genome Association Studies. / González, R. Juan, Lluís Armengol, Xavier Solé [et al.]. // Bioinformatics. – 2007. - №5. – P. 654–655.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

- Королева Юлия Вячеславовна, адрес: Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2 (Koroleva Yulia V., Moscow Regional Research Clinical Institute named after. M.F. Vladimirsky (MONIKI) address: 61/2 Shepkina street. 129110 Moscow, Russia) ORCID iD: 0000-0001-9146-422X **e-mail:** uka-7@mail.ru;

- Бокова Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, доцент [Tatyana A. Bokova, Doctor of Medical Sciences]**; e-mail:** bta2304@mail.ru; **ORCID:** 0000-0001-6428-7424; **eLibrary SPIN:** 3740-1734.

- Дрибноходова Ольга Павловна, кандидат биологических наук [Olga P. Dribnokhodova, PhD]; **e-mail: dribnokhodova@cmd.su**; **ORCID:** 0000-0003-4918-4907; **eLibrary SPIN:** 8513-7531.

- Миронов Константин Олегович, доктор медицинских наук, [Mironov Konstantin Ol., MD]; **e-mail: mironov@pcr.ru,** ORCID: 0000-0003-4481-2249, **eLibrary SPIN:**2706-5561

НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

А.О. Никифорова, В.А. Грешнякова

ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, Санкт-Петербург

Актуальность

Хронический вирусный гепатит С, несмотря на внедрение высокоэффективной терапии препаратами прямого противовирусного действия, остается одной из основных глобальных проблем здравоохранения. По данным ВОЗ, около 58 млн человек в мире инфицированы вирусом гепатита С, 3,2 млн из них – дети [1]. При этом цифры, приводимые ВОЗ, очевидно являются лишь «верхушкой айсберга», т.к. порядка 75% людей, живущих с этим заболеванием, не знают о своем диагнозе и не получают соответствующей медицинской помощи, а также являются потенциальным источником инфекции для других людей [2]. Согласно данным крупного систематического обзора и мета-анализа, проведенного Melikoki V. с соавторами, сероraспространенность гепатита С среди детей без идентифицируемых факторов риска колеблется в зависимости от региона: от 0,34% в Европе до 3.02% в Африке. Опираясь на данные этого исследования, в среднем, 0,87% детей в мире имеют антитела к вирусу гепатита С – то есть инфицированы либо перенесли инфекцию ранее [3]. У детей и подростков заболевание имеет относительно благоприятное течение со скудной клинической симптоматикой. Частота формирования жизнеугрожающих состояний, в частности цирроза печени, в детской когорте не превышает 1-2% [4-8]. Однако, не зря гепатит С назван «тихой эпидемией» и «ласковым убийцей». При отсутствии своевременной терапии у 32% людей, инфицированных вирусом гепатита С в раннем детстве, формируется цирроз печени в молодом, активном возрасте – к 35 годам, 4% пациентов к этому возрасту нуждаются в трансплантации печени, а 3% - погибают от осложнений, связанных с заболеванием [9]. Помимо повреждения печени, вирус гепатита С способен индуцировать и внепеченочные проявления, в том числе нарушения липидного и углеводного обменов, развитие стеатоза печени, аутоиммунные заболевания и др. [10]. Все эти нарушения отягощают течение гепатита и значимо повышают скорость его прогрессирования и риск неблагоприятных исходов.

Отягощают течение гепатита и сопутствующие нарушения жирового и липидного обменов, имеющее другие причины. Так, еще одной «тихой эпидемией», все шире

распространяющейся среди населения земного шара, является «эпидемия» ожирения. По данным масштабного исследования, которое проводилось ВОЗ и включало 130 млн человек, распространенность детского и подросткового ожирения во всем мире увеличились с менее чем 1% в 1975 г. до 6% (50 млн) среди девочек и 8% (75 млн) среди мальчиков в 2016 году. Совокупная численность страдающих ожирением в возрасте 5-19 лет выросла в глобальном масштабе более чем в 10 раз, с 11 млн в 1975 г. до 124 млн в 2016 году. Помимо детей с уже сформировавшимся ожирением, 213 млн имеют избыточный вес, находясь «на пороге» ожирения [11]. В то же время, из-за эпидемии сахарного диабета 2 типа (СД2) и ожирения, растет частота выявления метаболического синдрома. Метаболический синдром состоит из группы метаболических нарушений, включая резистентность к инсулину, атерогенную дислипидемию, центральное ожирение и артериальную гипертензию [11, 12].

По данным различных исследователей, имеются различия в нарушениях углеводного и липидного обменов у пациентов, инфицированных различными генотипами вируса гепатита С. Так, 1 и 2 генотипы оказывают влияние на метаболический профиль пациента, в то время как развитие стеатоза печени в большей степени коррелирует с 3 генотипом вируса. Жировая дистрофия печени, при инфицировании пациента не-3 генотипом вируса, может быть ассоциирована с развитием инсулинорезистентности, выраженной дислипидемии и ожирения [13,14].

Доказана связь между метаболическими нарушениями, развитием стеатоза, фиброза печени и снижением эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С [15]. То есть, несмотря на колоссальную эффективность этих препаратов, у пациентов с сопутствующими нарушениями, излечение может быть не достигнуто. Это ставит под угрозу стратегический план ВОЗ, обозначившей цель по элиминации вирусного гепатита С, как угрозы общественному в здравоохранению к 2030 году [16].

Помимо снижения эффективности противовирусной терапии, до сегодняшнего дня нет четкого понимания – позволяет ли элиминация вируса из организма пациента достичь нормализации вирус-индуцированных нарушений углеводного и липидного обменов. Другими словами, неясно – приводит ли противовирусная терапия гепатита С к полному излечению пациента, или после курса терапии мы решаем лишь эпидемиологическую проблему – человек перестает быть источником инфекции, - но не проблему с его здоровьем. После успешного курса противовирусной терапии было отмечено снижение инсулинорезистентности, и, как следствие, уменьшение степени стеатоза [15]. Однако были получены противоречивые данные о показателях липидного

обмена пациентов. В ряде исследований показано, что после терапии препаратами прямого противовирусного действия возможно повышение холестерина, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопро теидов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов [10]. В других же исследованиях изменения данных параметров не обнаружены [17, 18]. В когорте детского населения этот вопрос и вовсе не изучен.

Таким образом, изучение липидного и углеводного обменов, во взаимосвязи с вирусом гепатита С, у детей является чрезвычайно актуальной задачей, т.к. позволит уточнить масштабы проблемы и, в дальнейшем, предложить способы ее своевременного устранения.

Цель исследования

Изучить состояние липидного и углеводного обменов, состава тела у детей с хроническим гепатитом С.

Материалы и методы

Исследуемую группу составили 63 ребенка с хроническим гепатитом С в возрасте от 3 до 17 лет, проходивших обследование на базе Детского научно-клинического центра инфекционных болезней ФМБА России (г. Санкт-Петербург) в 2022-2023 годах. Средний возраст обследованных 11,3 лет. В структуре гендерного распределения превалировали девочки (55,5%).

Всем пациентам проведено комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, включавшее измерение антропометрических показателей и расчет индекса массы тела (ИМТ), биоимпедансный анализ состава тела, определение уровней триглицеридов, ЛПВП, холестерина, глюкозы, инсулина в сыворотке крови, расчет индекса HOMA-IR, УЗИ брюшной полости и эластографию печени с определением степени стеатоза. Кроме того, всем детям было проведено молекулярно-биологическое исследование крови - полимеразная цепная реакция с определением РНК вируса гепатита С в крови и уточнением его генотипа.

Сбор крови, УЗИ органов брюшной полости, эластография печени и биоимпедансный анализ состава тела проводились в одинаковых для всех условиях – утром, строго натощак.

Индекс HOMA-IR рассчитывается как произведение концентраций глюкозы (ммоль/л) и инсулина (мкЕд/мл), деленное на 22,5. Данный индекс является наиболее распространенным способом оценки инсулинорезистентности [19].

Определение уровня инсулина, полимеразная цепная реакция с определением РНК вируса гепатита С в крови и уточнением его генотипа проводилось с использованием реагентов компании АО «Вектор-Бест».

УЗИ брюшной полости выполнялось на аппарате Toshiba Aplio 500. В ходе обследования изучались размеры долей печени, структура и эхогенность паренхимы печени и поджелудочной железы, размеры и состояние желчного пузыря и селезенки.

Всем детям для определения степени выраженности фиброза и стеатоза печени была проведена эластография печени на аппарате Fibroscan 530 (EchoSens). Степень выраженности фиброза и стеатоза оценивалась по результатам серии из 18-20 исследований («толчков»). Полученный результат выражался в килопаскалях (кПа) и децибел-милливаттах (dB/m) соответственно, позволял оценить стадию фиброза от F0 (отсутствие фиброза) до F4 (фиброз 4 степени, то есть цирроз) по системе METAVIR и стеатоза от S0 (отсутствие стеатоза) до S3 (выраженный стеатоз). Оценка стеатоза печени проведена датчиками M+ или XL+ у 68,3% пациентов. Трактовка полученных результатов проводилась в соответствии с международными рекомендациями и инструкцией, прилагаемой к аппарату.

Всем детям был проведен биоимпедансный анализ обменных процессов и состава тела на аппарате АВС-02 “МЕДАСС”. Метод основан на измерении электрической проводимости различных тканей тела с расчетом состава тела (жировая, безжировая, клеточная, скелетно-мышечная масса, объём и распределение воды в организме). Результат исследования отображается в виде диаграммы, на которой наглядно представлены все показатели проведенного исследования, а также индивидуальные нормы, рассчитанные для конкретного пациента.

Критериями включения в исследование являлись: возраст старше 3 и младше 18 лет, подтвержденная данными амбулаторной карты длительность течения хронического гепатита С не менее 6 месяцев, положительный результат полимеразной цепной реакции (обнаружение РНК вируса в крови), отсутствие диагностированной ранее эндокринной патологии (по данным амбулаторной карты) и письменное согласие пациента или его законного представителя (для детей до 14 лет) на участие в исследовании.

Результаты исследования

Все дети, вошедшие в исследование, за исключением одного ребенка, были инфицированы перинатально - то есть длительность заболевания у них соответствовала возрасту. Исключение составил один ребенок 15 лет, длительность заболевания у

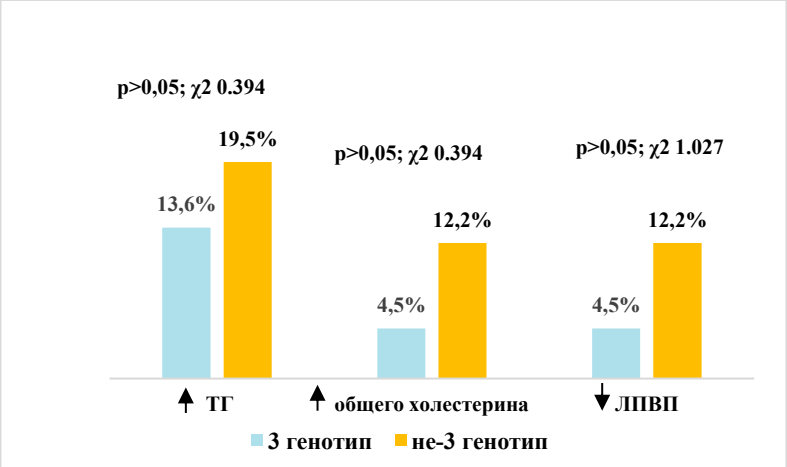
которого неизвестна, родители здоровы, гепатит С диагностирован при плановом обследовании в возрасте 14 лет.

Абсолютное большинство пациентов (71,4%) имели нормальный вес с ИМТ в пределах референтных для возраста значений, у 4,8% пациентов отмечался дефицит массы тела со снижением ИМТ. Лишь у небольшой части пациентов отмечалось повышение ИМТ: у 9,5% определен избыток массы тела, у 14,3% - ожирение.

У трети пациентов с хроническим гепатитом С выявлены отклонения показателей липидного обмена (28,6%). При этом большинство детей с нарушениями липидного обмена имели нормальный ИМТ (77,8%).

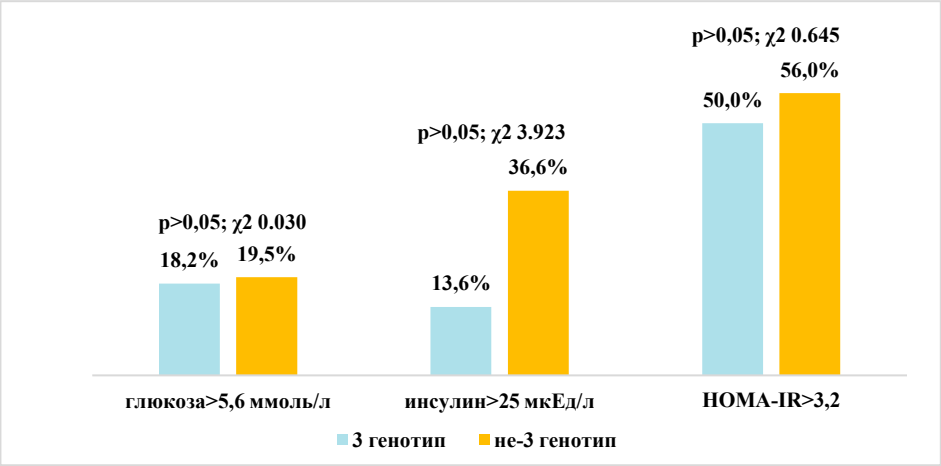
При генотипировании выявлено, что 34,9% пациентов инфицированы третьим генотипом вируса, 63,1% - не-третьим: 52,4% - первым, 11,1%, - вторым, у 1,6% пациентов генотип установить не удалось. Среди пациентов с не-третьим генотипом повышение уровня триглицеридов отмечалось в 19,5% случаев, повышение уровня холестерина – в 12,2%, снижение ЛПВП – 12,2%. В группе детей с 3 генотипом вируса повышенный уровень триглицеридов (ТГ) зарегистрирован у 13,6% пациентов, повышение уровня холестерина – 4,5%, снижение ЛПВП – 4,5%. Вопреки литературным данным, нами не было получено убедительных данных о взаимосвязи липидных нарушений с генотипом вируса (p>0,05; χ2 1.316). Корреляции между выраженностью отклонений в липидном профиле и возрастом, длительность заболевания обнаружено не было. Статистически значимой связи с половой принадлежность также не обнаружено.

Рисунок 1. Нарушения липидного обмена в зависимости от генотипа



По результатам исследования получены данные, свидетельствующие о высоком проценте инсулинорезистентности в когорте детей с хроническим вирусным гепатитом С. У 54% детей HOMA-IR > 3,2 что является достоверным признаком формирования инсулинорезистентности. При анализе взаимосвязи углеводного обмена с генотипом вируса, установлено, что в группе детей с 3 генотипом вируса повышение уровня инсулина зарегистрировано в 13,6%, а индекс HOMA-IR > 3,2 – у 50% пациентов. У пациентов с не-третьим генотипом повышение уровня инсулина встречалось в три раза чаще – в 36,6% случаев, а индекс HOMA-IR > 3,2 более чем у половины детей (56%). Риск формирования инсулинорезистентности имеют все дети с хроническим гепатитом С, независимо от генотипа вируса. На данной выборке пациентов значимую корреляцию между генотипом вируса и нарушениями углеводного обмена установить не удалось, однако увеличение объема выборки при дальнейшем изучении, вероятно позволит выявить статистически значимые различия.

Рисунок 2. Нарушения углеводного обмена в зависимости от генотипа



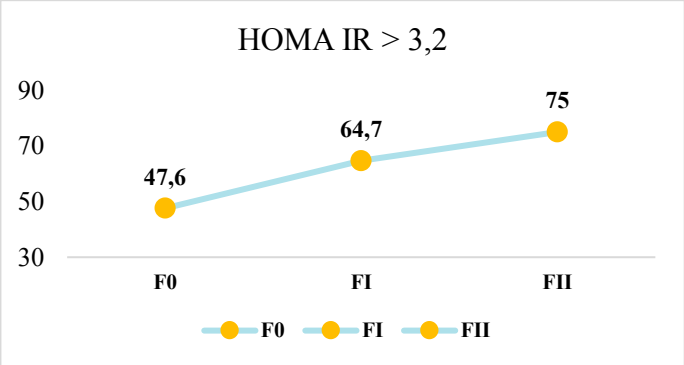
У трети пациентов (28,6%) с резистентностью к инсулину выявлен стеатоз печени, что значительно превышает частоту регистрации стеатоза среди детей без инсулинорезистентности (3,6%) (p<0,05; χ^2 *6*.746).

При оценке взаимосвязи частоты формирования стеатоза печени у пациентов с различными генотипами вируса гепатита С, установлено, что в группе детей с 3 генотипом вируса стеатоз диагностирован в 4,5% случаев. В то время как, у пациентов с не-третьим генотипом частота формирования стеатоза составила 25%. Нами была установлена корреляции между 1 и 2 генотипом вируса гепатита С и частотой формирования стеатоза печени на данной выборке пациентов (p>0,05; χ^2 4,069), вопреки литературным данным международных исследований взрослой популяции с

хроническим гепатитом С, что вероятно обусловлено метаболическими нарушениями [14, 15].

Имеется тенденция к увеличению частоты инсулинорезистентности пропорционально прогрессированию стадии фиброза печени. В группе пациентов без фиброза (F(0)) практически каждый второй (47,6%) имел симптомы инсулинорезистентности, в группе с фиброзом печени F(I) - ⅔ пациентов (64,7%), а среди детей с фиброзом печени F(II) - абсолютное большинство (75%). Статически значимой связи между частотой формирования фиброза печени и индексом HOMA-IR>3,2 не было выявлено ($p > 0,05$; χ^2 1,272). Обращает на себя особое внимание высокая частота инсулинорезистентности даже у пациентов без фиброза печени, что говорит о раннем формировании внепеченочных проявлений хронического вирусного гепатита С у детей.

Рисунок 3. Частота повышения индекса HOMA-IR у пациентов с различными стадиями фиброза печени при ХГС



По данным биоимпедансного анализа состава тела у 35% обследованных была повышена доля жировой массы. При этом не обнаружено корреляции между избытком массы тела и повышением доли жира – 82% детей с отклонениями по данным биоимпеданса имели нормальный ИМТ. Значимых различий между частотой отклонений по результатам биоимпедансного анализа в зависимости от половой принадлежности не обнаружено. Любопытно, что абсолютное число (91%) пациентов с повышением процента жировой массы – дети подросткового возраста (10-14 лет), что свидетельствует о дополнительном влиянии внешних факторов - образа жизни, стиля питания, - на жировой обмен. Таким образом, обнаружено, что биоимпедансный анализ позволяет обнаружить нарушения липидного обмена с избытком жировой массы даже у пациентов, не имеющих признаков ожирения по результатам антропометрии.

Обсуждение

По результатам проведенного исследования было определено, что метаболические нарушения у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С возможны при нормальной или даже недостаточной массе тела. С учетом отсутствия каких-либо других факторов, способствующих формированию патологии у данной группы детей, изменения метаболического профиля, вероятно, связаны с внепеченочным действием вируса гепатита С. Обнаружена и особенность детской когорты – вопреки литературным данным по взрослым пациентам, у детей с хроническим гепатитом С корреляции метаболических нарушений с генотипом вируса не выявлено [13, 14].

Обнаруженная в ходе исследования высокая частота инсулинорезистентности подтверждает литературные данные и является серьезной проблемой, способствующей формированию выраженного стеатоза и фиброза печени при отсутствии лечения, оказывая влияние на исход заболевания [20]. По данным Oliveira et al. было показано, что распространенность резистентности к инсулину у пациентов с хроническим гепатитом С значительно выше среди пациентов без ожирения и диабета, что указывает на роль вируса гепатита С как фактора, вызывающего инсулинорезистентность независимо от сопутствующих соматических факторов [21]. Лонгитюдное исследование, проведенное Mehta et al., показало, что у пациентов с хроническим гепатитом С риск развития сахарного диабета 2 типа в 11,5 раз выше по сравнению с общей популяцией. Более того, в двух независимых мета-анализах была подтверждена положительная корреляция между вирусом гепатита С и инсулинорезистентностью [22]. При хроническом вирусном гепатите С инсулинорезистентность способствует поддержанию фиброзно-воспалительного процесса в печени и коррелирует со стадией фиброза [15, 23]. По результатам анализа показателей углеводного обмена исследуемой группы детей, нами была выявлена значимая корреляция между инсулинорезистентностью и формированием стеатоза печени. Более того, прослеживается тенденция к увеличению частоты инсулинорезистентности пропорционально прогрессированию стадии фиброза печени.

Для большинства пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (40-86%) характерно формирование стеатоза печени [13]. Считается, что стеатоз у пациентов, инфицированных вирусом гепатита С 3 генотипа, строго связан цитопатическим действием вируса, поэтому стеатоз в этих условиях считается «вирусным». В тоже время у пациентов, инфицированных вирусом гепатита С не-третьего генотипа, стеатоз в

основном связана с факторами «хозяина», такими как индекс массы тела (ИМТ), висцеральное ожирение, резистентность к инсулину и СД 2 типа, и это называется «метаболическим» стеатозом [14]. Однако вразрез с данными общемировых исследований нами установлена корреляция между 1 и 2 генотипом вируса гепатита С и частотой формирования стеатоза в детской когорте пациентов.

Выводы

Принято считать, что хронический гепатит С у детей протекает практически бессимптомно и без внепеченочных проявлений. По результатам проведенного исследования представляется целесообразным включать расширенный биохимический анализ крови с определением показателей липидного и углеводного обменов, а также биоимпедансный анализ состава тела, в комплекс рутинных обследований пациентов с хроническим гепатитом С для своевременной диагностики метаболических нарушений. Формирующаяся в результате воздействия вируса гепатита С инсулинорезистентность, неотвратимо приводит к развитию стеатоза печени. В свою очередь, стеатоз повышает риск формирования выраженного фиброза печени и неблагоприятного исхода заболевания.

Необходимо проведение эластографии печени с оценкой CAP всем детям с хроническим гепатитом С для своевременной диагностики стеатоза и фиброза печени с целью коррекции тактики ведения пациентов для снижения риска неблагоприятного течения заболевания.

Ввиду малого возраста пациентов, стеатоз может присутствовать и без сопутствующих кардиометаболических факторов риска. Несмотря на отсутствие признаков ожирения, данные отклонения могут оказывать влияние на жизнедеятельность и нуждаются в коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c
2. www liverfoundation
3. Melikoki V, Kourlaba G, Kanavaki I, Fessatou S, Papaevangelou V. Seroprevalence of Hepatitis C in Children Without Identifiable Risk-Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2021 Jun 1;72(6):e140-e148. doi: 10.1097/MPG.0000000000003099.

4. Bortolotti, F.; Verucchi, G.; Camma, C.; Cabibbo, G.; Zancan, L.; Indolfi, G.; Giacchino, R.; Marcellini, M.; Marazzi, M.G.; Barbera, C.; et al. Long-term course of chronic hepatitis C in children: From viral clearance to end-stage liver disease. Gastroenterology 2008, 134, 1900–1907
5. European Paediatric Hepatitis, C.V.N. Three broad modalities in the natural history of vertically acquired hepatitis C virus infection. Clin. Infect. Dis. 2005, 41, 45–51
6. Jara, P.; Resti, M.; Hierro, L.; Giacchino, R.; Barbera, C.; Zancan, L.; Crivellaro, C.; Sokal, E.; Azzari, C.; Guido, M.; et al. Chronic hepatitis C virus infection in childhood: Clinical patterns and evolution in 224 white children. Clin. Infect. Dis. 2003, 36, 275–280
7. Pokorska-S´piewak, M.; Kowalik-Mikołajewska, B.; Aniszewska, M.; Pluta, M.; Walewska-Zielecka, B.; Marczyn´ska, M. Determinants of liver disease progression in children with chronic hepatitis C virus infection. Pol. J. Pathol. 2015, 66, 368–375
8. Guido, M.; Bortolotti, F.; Leandro, G.; Jara, P.; Hierro, L.; Larrauri, J.; Barbera, C.; Giacchino, R.; Zancan, L.; Balli, F.; et al. Fibrosis in chronic hepatitis C acquired in infancy: Is it only a matter of time? Am. J. Gastroenterol. 2003, 98, 660–663.
9. Modin, L.; Arshad, A.; Wilkes, B.; Benselin, J.; Lloyd, C.; Irving, W.L.; Kelly, D.A. Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection among children and young people. J. Hepatol. 2019, 70, 371–378
10. Wang CC, Cheng PN, Kao JH. Systematic review: chronic viral hepatitis and metabolic derangement. Aliment Pharmacol Ther. 2020 Jan;51(2):216-230. doi: 10.1111/apt.15575
11. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. Lancet. 2017 Dec 16;390(10113):2627-2642.
12. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, Cavan D, Shaw JE, Makaroff LE. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. Diabetes Res Clin Pract. 2017 Jun;128:40-50. doi: 10.1016/j.diabres.2017.03.024.
13. Adinolfi LE, Rinaldi L, Guerrera B, Restivo L, Marrone A, Giordano M, et al. NAFLD and NASH in HCV Infection: Prevalence and Significance in Hepatic and Extrahepatic Manifestations. Int J Mol Sci. 2016 May 25;17(6):803. doi: 10.3390/ijms17060803.
14. Хронический гепатит С и неалкогольная жировая болезнь печени. Основные аспекты патогенеза/ Жданов К.В., Карякин С.С., Козлов К.В. и др.// Вестник Российской Военно-медицинской академии.- 2018.- No 1 (61).- С. 216-221.

15. Siphepho PY, Liu YT, Shabangu CS, Huang JF, Huang CF, Yeh ML, Yu ML, Wang SC. The Impact of Steatosis on Chronic Hepatitis C Progression and Response to Antiviral Treatments. Biomedicines. 2021 Oct 17;9(10):1491. doi: 10.3390/biomedicines9101491.
16. Глобальные стратегии сектора здравоохранения по ВИЧ, вирусному гепатиту и инфекциям, передаваемым половым путем, на 2022–2030 гг. [Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2022. 134 с.
17. Tada T, Kumada T, Toyoda H, Sone Y, Takeshima K, Ogawa S, Goto T, Wakahata A, Nakashima M, Nakamuta M, Tanaka J. Viral eradication reduces both liver stiffness and steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy. Aliment Pharmacol Ther. 2018 Apr;47(7):1012-1022. doi: 10.1111/apt.14554
18. Влияние противовирусной терапии на снижение риска развития метаболического синдрома у больных хроническим гепатитом С / А. Ф. Новикова, Д. А. Кокорев, Д. Ю. Константинов, Л. Л. Попова // Журнал инфектологии. – 2023. – Т. 15, № 2. – С. 132-138. – DOI 10.22625/2072-6732-2023-15-2-132-138
19. Васюкова О.В., Витебская А.В. Инсулинорезистентность при ожирении у детей: спорность оценки. Проблемы Эндокринологии. 2009;55(3):8-12.
20. Элиминация HCV-инфекции: история с продолжением / К. В. Жданов, К. В. Козлов, В. С. Сукачев [и др.] // Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10, № 4. – С. 6-13. – DOI 10.22625/2072-6732-2018-10-4-6-13. – EDN YYNXML.
21. Oliveira LP, de Jesus RP, Boulhosa RS, Onofre T, Mendes CM, Vinhas L, Waitzberg DL, Lemaire DC, Cavalcante LN, Lyra AC, Lyra LG. Factors Associated with Insulin Resistance in Patients with Chronic HCV Genotype 1 Infection without Obesity or Type 2 Diabetes. J Am Coll Nutr. 2016 Jul;35(5):436-42. doi: 10.1080/07315724.2015.1072756.
22. Alzahrani N. Hepatitis C virus, insulin resistance, and diabetes: A review. Microbiol Immunol. 2022 Oct;66(10):453-459. doi: 10.1111/1348-0421.13023.
23. Жданов, К.В. Гепатит С и неалкогольная жировая болезнь печени у пациентов с ВИЧ-инфекцией / К.В. Жданов, К.В. Козлов, В.С. Сукачев // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2017. – No 1 (9). – С. 36–42.

РАЗРАБОТКА И КОМПЬЮТЕРНАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ ПРЕДИКТИВНЫХ КРИТЕРИЕВ НАРУШЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Е.Н. Тягушева

Научные руководители: член-корр. РАН, д.м.н., проф. Л.А. Балыкова, к.м.н., доц. Е.И. Науменко, д.м.н., доц. Т.И. Власова

Введение. Нарушение сердечного ритма (НСР) проявляется изменением нормального ритма сердечных сокращений. НСР занимают второе место среди заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС) детского возраста, составляя 15% [1]. В связи с анатомо-физиологическими особенностями проводящей системы сердца у новорожденных, такими как большее количество пейсмекерных клеток в синусовом узле и малое количество промежуточных клеток и коллагена, медленная резорбция отдельных элементов эмбриональной проводящей системы и продолжающееся формирование ножек пучка Гиса и внутрижелудочковых проводящих путей после рождения ребенка, являются триггерами, способствующие развитию аритмий [1,2]. Показатели антенатальной и постнатальной выявляемости НС остается низким и составляет в среднем 5 и 20% соответственно [3]. Имеет место быть немалое количество причин НСР у новорожденных: органическое поражение сердца, метаболические сдвиги, системные заболевания антенатального периода, заболевания центральной и вегетативной нервной систем на фоне родовой травмы и внутриутробной гипоксии [4]. Согласно исследованиям Н.В. Харламовой [5], НСР и проводимости диагностируются у 20-31% детей, перенесших внутриутробную гипоксию. Диагностика аритмий у новорожденных и детей первого года жизни представляет особую сложность из-за отсутствия выраженной клинической картины и неспособности детей этого возраста описать свои жалобы.

Период новорожденности-уязвимый возраст, характеризующийся резкими физиологическими изменениями. В неонатологии понимание изменений фундаментальных физиологических систем в течение первых месяцев жизни должно включать и понятие созревания системы вегетативной регуляции. Функция вегетативной нервной системы (ВНС) имеет решающее значение для перехода от внутриутробной жизни к внеутробной и связана с развитием нервной системы и ССС в дальнейшей жизни. Для достижения полного автономного созревания ВНС при рождении необходимо не менее 37 недель гестации [6,7]. Патогенетическая связь между НРС и дизавтономией в неонатальном периоде заслуживает уточнения и последующего изучения всех звеньев регуляции. Неблагоприятные пренатальные и неонатальные условия и воздействия могут ухудшать развитие ВНС и, как следствие, повлиять на последующие этапы формирования нервной системы [8].

Развитие ВНС в неонатальном периоде является особенным этапом для становления симпатического тонуса, поэтому ранние нарушения вегетативной регуляции, которые могут возникать при преждевременных родах, связаны с долгой вегетативной дисфункцией [6,9]. При сочетании незрелости ВНС у недоношенных детей и гипоксии адаптация новорожденных может еще больше задерживаться и нарушаться, что имеет последствия для становления жизненно важных систем регуляции.

Проблема перинатальной гипоксии на протяжении многих лет привлекает внимание акушеров и неонатологов. Среди ее последствий-изменения сердечно-сосудистой системы, частота которых, по данным разных авторов, составляет 40-70%, неврологические нарушения различной степени тяжести, синдром дыхательных расстройств, вегетативная дисфункция [10,15]. Известно о механизмах пластичности незрелой ЦНС у новорожденных детей, представляющие собой набор механизмов, которые регулируют возбудимость и могут способствовать установлению вегетативной функции, где при ее активации некоторые характеристики нервной активности гомеостатически восстанавливаются после возбуждения [6,11]. Относительным преимуществом длительных и многогранных периодов пластичности мозга новорожденного ребенка является то, что это позволяет развивающемуся мозгу динамично адаптироваться в ответ на триггерные сигналы окружающей среды [11,12,18]. В связи с этим имеется ряд особенностей прогнозирования дальнейшего функционального состояния ССС. В результате гипоксии у плода и новорожденного происходит нарушение регуляции ВНС сердца и сосудов, в том числе и коронарных. Развитие сердечно-сосудистых нарушений у недоношенных новорожденных может быть обусловлено церебральными экстракардиальными и кардиальными механизмами патогенеза. Многочисленные пути нарушения регуляции вызывают изменения в энергетическом обмене миокарда, приводя к быстрому снижению его сократительной функции. У большинства недоношенных детей имеет место быть высокий индекс напряжения, повышение активности симпатического и парасимпатического компонентов вегетативного обеспечения, а у части детей наблюдается истощение приспособительных механизмов в виде низкого индекса напряжения [13,14]. Перенесенная хроническая внутриутробная гипоксия вызывает изменение вегетативного статуса с преобладанием активности симпатического отдела вегетативной нервной системы в раннем неонатальном периоде [15]. Состояние ВНС у детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы (ЦНС) характеризуется большим процентом детей с ваготонией и в то же время высоким уровнем симпатикотонии в исходном вегетативном тонусе. В генезе поражения миокарда важную роль играет метаболический ацидоз, который негативно влияет на состояние эндотелия сосудов. В силу чего возникают условия, способствующие нарушению микроциркуляции органов, в том числе и миокарда [16]. Это сопровождается интерстициальным отеком и ухудшением обмена метаболитов и газов между

клеткой и циркулирующей кровью. В течение первых нескольких дней внеутробной жизни происходят важные изменения в периферической микроциркуляции. Нейронный и миогенный контроль сосудистой системы должен быть установлен быстро для обеспечения соответствующей стабильности сердечно-сосудистой системы у новорожденного [16,17]. Нарушение регуляции микрососудистого кровотока у новорожденных, в т.ч у недоношенных детей связано с увеличением тяжести заболевания.

Регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) позволяет выявить гипоксически опосредованные особенности становления электрофизиологических показателей миокарда в неонатальном периоде, нарушения реполяризации, вегетативного дисбаланса у новорожденных детей. Повреждение обоих контуров регуляции ритма сердца у новорожденных в условиях гипоксии и различная эффективность саногенетических механизмов восстановления функционально-метаболического статуса миокарда и структур ЦНС определяет сложности прогнозирования электрической нестабильности миокарда и адаптации ССС в целом в динамике неонатального периода.

В настоящее время большое внимание уделяется интеграции цифрового здравоохранения в реальную медицинскую практику. Нейронные сети и машинное обучение играет одну из ключевых ролей в современной медицине, поскольку позволяет неинвазивно визуализировать внутренние структуры и метаболические процессы человеческого организма в деталях в аспекте персонализированной медицины [19]. Это помогает в диагностике заболеваний, планировании лечения и последующем наблюдении за счет добавления потенциально информативных данных в виде характеристик заболевания, специфичных для конкретного пациента. Недавние достижения в области искусственного интеллекта (ИИ) начали проникать в здравоохранение, среди них так называемые методы глубокого обучения, которые могут автоматически изучать несколько уровней представлений из многомерных данных без необходимости участия людей в программировании объектов. Основная цель инструментов ИИ для медицинской визуализации-помощь врачам практической медицины в принятии решений путем объединения множества факторов в модель, которая выдает практический результат [20].

Поскольку индивидуальные различия в активности ВНС, адаптации миокарда к гипоксии предсказывают повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний, эти различия могут дать представление о раннем возникновении НРС в младенческом возрасте и обеспечить дополнительную стратегию общественного здравоохранения, направленная на снижение риска развития заболеваний с ростом ребенка.

Цель: оценить патогенетическое значение церебральной ишемии и ВЖК различной степени выраженности в формировании электрокардиографических динамических изменений и развитии НРС у новорожденных детей, на основании чего с использованием методов

компьютерной реализации (классических методов машинного обучения и нейронных сетей) определить подходы к разработке алгоритма предикции НРС новорожденных.

Материалы и методы: в работе проведен ретроспективный анализ 153 историй болезни новорожденных детей. На основании критерий включения и исключения новорожденные дети разделены на 3 группы: 1 группа-исследуемая-недоношенные новорожденные дети с ВЖК (I-III ст.) и церебральной ишемией (ЦИ) (n=32); 2 группа-сравнения-недоношенные новорожденные дети (n=61) с ЦИ (I-III ст.); 3 группа-контроль-доношенные новорожденные дети (n=60).

На первом этапе исследования проведена комплексная оценка функционального состояния ССС у новорожденных детей выбранных групп. В схему обследования входила оценка перинатального анамнеза, традиционное физикальное обследование, ОАК, биохимический анализ, инструментальное обследование ЦНС и ССС (оценка данных электрокардиограммы в 12 стандартных отведениях), консультация кардиолога, невролога. Интерпретация данных проведена согласно нормативам детского возраста. Для оценки структур головного мозга-нейросонография (НСГ) и доплерографическое исследование церебральных сосудов. С целью оценки функционального состояния ЦНС использовалась электроэнцефалография (ЭЭГ).

Результаты: состояние, как очень тяжелое, при рождении расценено у 28% детей только 1 группы, тяжелое чаще у детей с ВЖК (34% и 15%, p<0,05), средней степени тяжести у 85% новорожденных 2 группы и у 38% 1 группы. Переведены на ИВЛ после рождения 85% детей с ВЖК и 37,5% без ВЖК (p<0,001). Разгибательная поза ребенка чаще в I группе (28% и 10%, p<0,05), поза «лягушки» была только у 6% детей с ВЖК, одинаково часто флексорная поза и полуфлексорная (32% детей с ВЖК и у 52% детей II группы, p>0,05). Сухожильные рефлексы присутствовали чаще у новорожденных контрольной группы (77,5%, p<0,001), только у 28,5%, детей с ВЖК. Рефлексы новорожденных вызываются значительно чаще у детей II группы (40%), чем у детей I группы (8%, p<0,001); отсутствуют рефлексы достоверно чаще у детей I группы (30% и 2,5%, p<0,001); вызываются, но быстро угасают одинаково у детей обеих групп. Снижение мышечного тонуса наблюдалось у 78% детей с ВЖК (p<0,05) (рис.1).

Рисунок 1. Неврологический статус новорожденных детей

По данным НСГ у всех детей визуализировалась незрелость структур мозга и ишемические изменения, глубокая незрелость у 8% детей с ВЖК. Субэпендимальное кровоизлияние регистрировалось в 100% случаев при ВЖК, а паренхиматозное кровоизлияние гораздо реже (4%), отек структур мозга у 14% и 7% соответственно.

По нашим данным средние значения ЧСС на 1-е сутки не превышали возрастную норму и преобладали у новорожденных III группы (142,5±4,7 и 154,1±3,76,157,3±3,23, p_{I-II}=0,049, p_{II-III}=0,519, p_{I-III}=0,011). У 22% детей с ВЖК из-за гипоксического угнетения пейсмекерной активности синусового узла и незрелости центральных механизмов регуляции сердечного ритма, выявлена синусовая брадикардия с ЧСС ниже 2 перцентиля в среднем 83,5±2,47 уд/мин, синусовая тахикардия 31% детей (рис.2). У новорожденных II группы синусовая тахикардия регистрировалась у 47% ($p<0,05$), а синусовая брадикардия у 15% детей. Тогда как в группе контроля синусовая тахикардия и брадикардия наблюдалась у 5% и 2% детей соответственно ($p<0,01$).

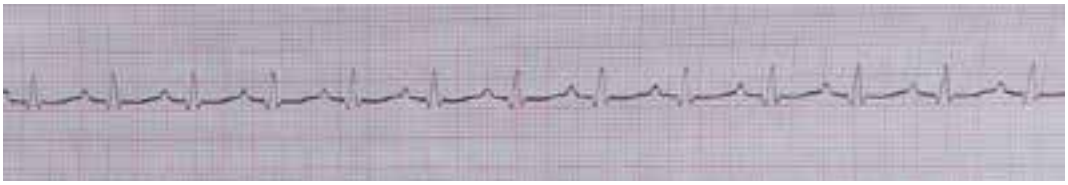


Рисунок 2. Пример ЭКГ недоношенного новорожденного ребенка в 1-е сутки жизни: синусовая тахикардия с ЧСС-198 уд/мин

У 3% детей с ВЖК наблюдалась миграция водителя ритма. Длительность интервалов P (I-0,063±0,0008, II-0,059±0,0002, III-0,055±0,0006, p_{I-II}=0,0088775, p_{II-III}=0,00000, p_{I-III}=0,00000), PQ (I-0,0994±0,001184, II-0,0987±0,00667, III-093842±0,001681 p_{I-II}=0,9164, p_{II-III}=0,0082, p_{I-III}=0,0081) у детей I группы больше, чем у детей II группы, хотя и не превышает нормальные значения, а длительность интервала QRS немного меньше у детей с ВЖК, чем у детей без ВЖК. Показателем электрической стабильности миокарда на ЭКГ является длительность интервала QT (рис.3).

Рисунок 3. Пример ЭКГ недоношенного новорожденного ребенка в 1-е сутки жизни: удлинение интервала QTc

По нашим данным, длительность электрической систолы составила QT (0,259±0,00703 и QTc 423,7±7,186 в I группе больше, чем во II группе 0,249±0,00408 и QTc 399,7±3,715 (p=0,2122, p=0,003920 соответственно). В группе контроля QT 0,268±0,0035 и QTc 399,8±1,944 (p_{II-}

$_{III}$=0,2122, p_{I-III}=0,000384; p_{II-III}=0,914044, p_{I-III}=0,001489 соответственно) (таб.1). QTc превысил норму и достиг 490 мс и 487 мс соответственно у 16% детей (n=8) с ВЖК и 2,5 % без ВЖК.

	1 сутки			
	I	II	III	p
P	0,06317±0,00083	0,05997±0,00017	0,05455±0,00059	pI-II =0,0088775 pII-III =0,00000 pI-III =0,00000
PQ	0,09941±0,00118	0,09875±0,00067	0,09384±0,00168	pI-II =0,9164 pII-III =0,0082 pI-III =0,0081
QT	0,259±0,007	0,249±0,00409	0,268±0,00357	pI-II =0,2122 pII-III =0,22421 pI-III =0,000384
QT C	423,7±7,186	399,73±3,716	399,28±1,944	pI-II =0,00392 pII-III =0,914044 pI-III =0,001489
QRS	0,053±0,00178	0,05598±0,00098	0,05728±0,00077	pI-II =0,145977 pII-III =0,299046 pI-III =0,029897
лактат	6,203±0,38958	4,36246±0,2687	1,902±0,08187	p_{I-II} =0,000192 p_{II-III} =0,00000 p_{I-III} =0,000000

Таблица 1. Результаты ЭКГ на 1-е сутки жизни

Для поражений ЦНС гипоксического генеза наиболее характерны изменения конечной части желудочкового комплекса- ST-T. По нашим данным, элевация сегмента ST отмечалась у 26% детей I группы и только у 8% II группы (p<0,05). Реже регистрировалась депрессия сегмента ST- у 9% детей с ВЖК и у 1 ребенка без ВЖК. В группе детей с ВЖК регистрировались ишемически опосредованные изменения амплитуды и полярности зубца Т. Изоэлектричный зубец Т в I, II, V5, V6, реже в AvF отведениях регистрировался чаще у детей 1-й группы (28%), чем у детей группы сравнения (16%, p<0,05). Положительный зубец Т в V1 у 48% детей обеих групп в первые трое суток, что отражает перегрузку правого желудочка, чаще у детей с ВЖК (p<0,05). Электрофизиологические нарушения возбудимости и проводимости проявлялись единичными наджелудочковыми экстрасистолами в 7% (I группа-5%, II группа-1%), нарушением внутрижелудочкового проведения по типу блокады правой ножки пучка Гиса (ПНПГ) у 32% недоношенных. У 5% детей I группы наблюдалась полная блокада ПНПГ. Уровень лактата был выше у недоношенных детей с ВЖК (I-6,203±0,38958 ммоль/л, II-4,36246±0,2687 ммоль/л, III-1,902±0,08187 ммоль/л, p_{I-II}=0,000192, p_{II-III}=0,00000, p_{I-III}=0,000000).

На 3 и 10 дни жизни были проведены динамические инструментальные и биохимические исследования. По нашим данным, на 3-е сутки средняя ЧСС преобладала у детей II группы 163,8±3,35, тогда как в I группе наблюдается снижение средней ЧСС 136,9±5,14 (p_{I-II} =0,000188, p_{II-III} =0,000889, p_{I-III} =0,000032). Интересно, что длительность возбуждения желудочков QRS на 3-е сутки жизни показала значимые результаты в оценке достоверности в 3-х группах (I-

0,0507±0,00176, II-0,0569±0,00094, III-0,05947±0,00061, p_{I-II}=0,000000, p_{II-III}=0,023592, p_{I-III} =0,00000). При оценке параметра нестабильности миокарда, интервал QT (I- 0,28345±0,00369, II-0,26333±0,00251,III-0,27165±0,00343, p_{I-II}=0,000019, p_{II-III}=0,742282, p_{I-III}=0,0214) и QTc (I-432,23±6,47447, II-409,7377±3,86436, III-398,33±1,72546, p_{I-II}=0,0003672, p_{II-III} =0,008055, p_{I-III} =0,000008) были достоверно больше у детей исследуемой группы. Средний уровень лактата в крови у детей исследуемой группы и группы сравнения имел тенденцию к снижению, но оставался выше нормы (I-3,41±0,324 ммоль/л, II-3,217±0,175 ммоль/л, III-1,86±0,029 ммоль/л, p_{I-II}=0,601488, p_{II-III}=0,000103, p_{I-III}=0,00000) (таб. 2). На 10-е стуки жизни-наблюдались улучшения показателей ЭКГ и лактата крови. Регистрация синусовой брадикардии у детей I группы уменьшилась в 3 раза. Напротив, синусовая тахикардия сохранялась. Миграция водителя ритма не регистрировалась. ST-T нарушения сохранялись у 14% детей I группы и 7,5% II группы.

	3 сутки				10 сутки			
	I	II	III	p	I	II	III	p
ЧСС	136,9±5,14	163,8±3,35	157,3±3,14	p_{I-II} =0,000188 p_{II-III} =0,000889 p_{I-III} =0,000032	148,4±5,18	152,4±3,53	148,6±2,94	p_{I-II} =0,525017 p_{II-III} =0,409809 p_{I-III} =0,0973288
P	0,06097±0,001	0,06067±0,00087	0,05785±0,00084	p_{I-II} =0,821456 p_{II-III} =0,01925 p_{I-III} =0,019006	0,0619±0,001357	0,0621±0,0000887	0,060813±0,000765	p_{I-II} =0,901533 p_{II-III} =0,27411 p_{I-III} =0,487128
PQ	0,10075±0,00106	0,09822±0,00110	0,0965±0,00089	p_{I-II} =0,101168 p_{II-III} =0,226569 p_{I-III} =0,002833	0,09067±0,001357	0,098048±0,001135	0,098247±0,001228	p_{I-II} =0,000067 p_{II-III} =0,905473 p_{I-III} =0,000079
QT	0,28345±0,00369	0,26333±0,00251	0,27165±0,00343	p_{I-II} =0,000019 p_{II-III} =0,742282 p_{I-III} =0,0214	0,274067±0,003603	0,258049±0,002479	0,26715±0,003489	p_{I-II} =0,000000 p_{II-III} =0,388949 p_{I-III} =0,171308
QT C	432,23±6,47447	409,7377±3,86436	398,33±1,72546	p_{I-II} =0,0003672 p_{II-III} =0,008055 p_{I-III} =0,000008	412,7667±4,63661	406,32787±3,42648	399,9±2,156674	p_{I-II} =0,267044 p_{II-III} =0,114998 p_{I-III} =0,013657
QRS	0,0507±0,00176	0,0569±0,00094	0,05947±0,00061	p_{I-II} =0,000000 p_{II-III} =0,023592 p_{I-III} =0,00000	0,0526±0,001748	0,060836±0,000967	0,0599±0,00078	p_{I-II} =0,00000 p_{II-III} =0,452712 p_{I-III} =0,00000
лактат	3,41±0,324	3,217±0,175	1,86±0,029	p_{I-II} =0,601488 p_{II-III} =0,000103 p_{I-III} =0,00000	2,823±0,2997	2,7634±0,1855	1,8775±0,1287	p_{I-II} =0,866101 p_{II-III} =0,000147 p_{I-III} =0,00443

Таблица 2. Результаты ЭКГ на 3-е и 10-е сутки жизни

Нами изучены корреляционные взаимосвязи между исследованными показателями ЭКГ и биохимическим показателем крови (лактат). В 1 группе на 1-е сутки жизни лактат коррелировал с QTc (r=0,498215) и с изменением сегмента ST (r=-0,333997). На 3-е сутки выявлена прямая

зависимость ЧСС от уровня лактата (r=0,487109) и обратная связь с QTc (r=-0,3604). На 10-е сутки значимой корреляции выявлено не было, вероятно, в связи с нормализацией показателей. Во II группе на 1-е сутки лактат коррелировал с QTc (r=-0,478959). Вышеуказанное подтверждает значимость пренатальной гипоксии как механизма прямого миокардиального повреждения.

Мы обратили внимание на средние корреляционные взаимосвязи, обнаруженные между уровнем лактата и показателем глубины тел боковых желудочков справа (r=0,416865) и слева (r=0,495251). В связи с этим имеет место быть статистическая значимость гипоксии в повреждении ЦНС.

Перспектива дальнейших исследований представляется во многих направлениях, в первую очередь с разработкой приложения для персонального компьютера или мобильных телефонов в качестве помощника врача неонатолога с необходимостью предикции ранней диагностики НСР.

Планируется использование классических методов машинного обучения и нейронных сетей для оценки предиктивной значимости выявленных ЭКГ-маркеров электрической нестабильности миокарда, сопряженных с церебральными нарушениями гипоксического генеза.

Основой подхода является алгоритм обучения с помощью градиентного бустинга-технология машинного обучения, которая создает модель прогнозирования путем объединения слабых моделей прогнозирования для решения задач классификации и регрессии. Цель обучения- выбрать модель y_i, в зависимости от набора функций x_i, которая наилучшим образом решает данную задачу (регрессию, классификацию или мультиклассификацию) для любого входного объекта. Эта модель использует идею о том, что следующая модель будет учиться на ошибках предыдущей. Они имеют неравную вероятность появления в последующих моделях, и чаще появятся те, что дают наибольшую ошибку. Во время обучения алгоритм последовательно строится на деревьях решений с градиентным усилением. Процесс построения деревьев решений заключается в последовательном, рекурсивном разбиении обучающего множества на подмножества с применением решающих правил в узлах. Каждое последующее дерево строится с меньшими потерями по сравнению с предыдущими. Алгоритмы построения деревьев решений относят к категории жадных алгоритмов, где если один раз был выбран атрибут, и по нему было произведено разбиение на подмножества, то алгоритм не может вернуться назад и выбрать другой атрибут, который дал бы лучшее итоговое разбиение. Для оптимальной тактики введения входных данных мы использовали элементы кодирования параметров ЭКГ. ЧСС, зубец Р, интервал PQ, комплекс QRS, интервал QT и QTc, уровень лактата, а также показатели НСГ во входных данных принимали в виде числовых значений. Сегмент ST кодировали:1-депрессия

сегмента ST относительно изолинии, 2-элевация сегмента ST относительно изолинии, 3-сегмент ST находится на изолинии.

Выводы: незрелость миокарда и ЦНС в сочетании с перенесенной гипоксией ограничивает возможности становления электрофизиологических процессов миокарда у новорожденных детей, особенно у недоношенных. Сочетание поражения ЦНС гипоксического генеза и ВЖК обусловливает максимальные нарушения становления механизмов экстракардиальной регуляции сердечной деятельности. Найденные взаимосвязи могут помочь в обозначении роли гипоксии, дизавтономии как предиктивных факторов в континууме изменений состояния сердечной регуляции у новорожденных детей. В дальнейшем развитии необходимы дополнительные исследования с помощью нейро и кардиовизуализации для развития механистического понимания связи между повреждением нервной и сердечно-сосудистой систем и ее роли в патологии, а также поиска способов ее прогнозирования; одним из подходов решения данной проблемы является использование методов машинного обучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крутова, А.В., Котлукова Н.П., Л.В. Симонова и др. Особенности течения и прогноз нарушений сердечного ритма и проводимости у детей первого года жизни // Педиатрия. – 2015. – Т. 94. – №2. – С. 13-18.
2. Крутова, А.В., Котлукова Н.П. Нарушение сердечного ритма у детей первого года жизни // Актуальные вопросы педиатрии, перинатологии и репродуктологии. V выпуск. Нижний Новгород – 2015. – С. 272-281.
3. Сафонова Н.Е., Попова Н.Г. Антенатальное прогнозирование поражений ЦНС при преждевременных родах // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. – 2016. – №4.
4. Jongbloed M.R., Schalij M.J., Poelmann R.E. [et al.]. Embryonic conduction tissue: a spatial correlation with adult arrhythmogenic areas? Transgenic CCS/lacZ expression in the cardiac conduction system of murine embryos // J. Cardiovasc. Electrophysiol. – 2004. – Vol. 15. – P. 349-355.
5. Харламова Н.В., Шилова Н.А., Ласкина М.Ю., Комина Н.И. Постгипоксические нарушения сердечно-сосудистой системы у новорожденных детей: механизмы формирования // Современные проблемы науки и образования. – 2023. – № 5.
6. Kozar, M., Tonhajzerova, I., Mestanik, M. et al. Heart rate variability in healthy term newborns is related to delivery mode: a prospective observational study // BMC Pregnancy Childbirth. – 2018. –Vol. 18. – P. 264-267
7. Patural H, Franco P, Pichot V. Heart Rate Variability Analysis to Evaluate Autonomic Nervous System Maturation in Neonates: An Expert Opinion // FrontPediatr. –2022.
8. Schlatterer SD, du Plessis AJ. Exposures influencing the developing central autonomic nervous system // Birth Defects Research. – 2021. – Vol. 113.

9. April Ratliff, Dobromila Pekala, Peter Wenner. Plasticity in Preganglionic and Postganglionic Neurons of the Sympathetic Nervous System during Embryonic Development // eNeuro. – 2023. – Vol. 10.
10. Котлукова Н.П., Симонова Л.В., Жданова Л.И. Современные представления о механизмах развития кардиоваскулярной патологии у детей раннего возраста // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2003. – №3. – С. 28-33.
11. Almeida J., Baud O., Fau S., Barcos-Munoz F., Courvoisier S. et all. Music impacts brain cortical microstructural maturation in very preterm infants: A longitudinal diffusion MR imaging study // Developmental Cognitive Neuroscience. – 2023. – Vol. 6.
12. Weyandt LL, Clarkin CM, Holding EZ, May SE, Marraccini ME, Gudmundsdottir BG, Shepard E, Thompson L. Neuroplasticity in Children and Adolescents in Response to Treatment Intervention: A Systematic Review of the Literature // Clinical and Translational Neuroscience. – 2020. – Vol. 4.
13. Шейбак Л.Н. Влияние фактора гипоксии на сердце новорожденного Медицинские новости. – 2008. – №2. – С. 18-22.
14. Николаева Т. Н., Дашичев В. В. Исходное состояние и динамика показателей сердечного ритма у недоношенных новорожденных в периоде ранней постнатальной адаптации // Вестник ИвГМА. – 2011. – №3.
15. Балыкова Л.А., Гарина С.В., Назарова И.С., Белкина Н.Р., Сергеева Я.Р. Новый способ фармакологической коррекции постгипоксической кардиопатии новорожденных детей // МС. – 2018. – №2.
16. Paolo G. Camici, Ornella E. Rimoldi, Filippo Crea, 5 - Coronary Microvascular Dysfunction, Editor(s): James A. de Lemos, Torbjørn Omland, Chronic Coronary Artery Disease // Elsevier. –2018. – P. 55-68.
17. de Boode WP. Individualized Hemodynamic Management in Newborns // Front. Pediatr. – 2020 8:580470.
18. DeMaster, D., Bick, J., Johnson, U. et al. Nurturing the preterm infant brain: leveraging neuroplasticity to improve neurobehavioral outcomes // Pediatr Res. – 2019. – Vol. 85. – P. 166-175.
19. Chi S, Wang Y, Zhang Y, Zhu W, Li J. Graph Neural Network Based Multi-Label Hierarchical Classification for Disease Predictions in General Practice // Stud Health Technol Inform. – 2024. –Vol. 25. – P. 725-729.
20. Morales MA, Manning WJ, Nezafat R. Present and Future Innovations in AI and Cardiac MRI // Radiology. – 2024. – Vol. 10.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТАУ ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ВИТАМИНОМ D

А.Н. Цуцаева[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ставрополь, Россия

[2] ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», Ставрополь, Россия

На сегодняшний день уделяется всё большее внимание влиянию витамина D на функцию иммунной системы человека, включая как звенья врожденного, так и приобретенного иммунитета [1-4]. В связи с тем, что рецепторы витамина D (VDR) обнаружены практически у всех иммунных клетках [5, 6], доказана их восприимчивость к витамин D-опосредованной модуляции.

Наряду с непосредственным модулирующим влиянием активных метаболитов витамина D на различные клетки иммунной системы, установлен ещё один механизм, опосредующий иммуномодулирующую функцию холекальциферола – это способность индуцировать синтез антимикробных пептидов (АМП) [7, 8].

Антимикробные пептиды являются универсальными молекулами врожденного иммунитета. Различные классы антимикробных пептидов обладают широким спектром активности в отношении бактерий, грибов и вирусов. Помимо этого, АМП посредством различных механизмов способны регулировать иммунный ответ [7, 8].

Образование и экспрессия молекул АМП контролируется множеством экзогенных и эндогенных факторов [7, 8]. Установлена важная роль витамина D в усилении продукции АМП, в частности, дефензинов [8, 9, 10]. На сегодняшний день доказано, что в промоторной части генов, кодирующих синтез дефензинов (DEF4A) находятся рецепторы к витамину D. Взаимодействие кальцитриола с этими рецепторами обусловливает индукцию синтеза дефензинов [8, 11, 12].

Цель исследования – проанализировать взаимосвязь между обеспеченностью витамином D и продукцией дефензинов, а также оценить влияние терапевтических доз препаратов холекальциферола на синтез дефензинов у детей раннего возраста.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования стали 108 детей в возрасте от рождения до 3 лет, находящиеся на амбулаторном учёте в ЛПУ г. Ставрополя. Группу обследованных составляли 29 (29,6%) детей в возрасте до 6 месяцев, 21 (19,4%) ребёнок в возрасте от 6 до 12 месяцев, 30 (27,8%) детей второго и 28 (25,9%) детей третьего года жизни.

Критериями включения детей в исследование стали:

- возраст от 0 месяцев до 3 лет;

- удовлетворительное состояние на момент исследования;
- возможность взятия крови;
- дети без генетических синдромов;
- постоянные жители Юга России.

Критериями исключения из группы исследования были следующие:

- наличие установленного диагноза рахит;
- нарушения у детей печеночной и/ или почечной функции;
- нарушения психического развития;
- дети с ЗВУР/ гипотрофией 2-3 степени;
- наличие синдрома мальабсорбции.

В общей группе пациентов исходно получали профилактические дозы препаратов холекальциферола 50 (46,29 %), в то время как 58 (53,71%) детям профилактика недостаточности витамина D не проводилась.

Концентрация кальцидиола сыворотки крови (25(OH)D) определялась в лаборатории научного центра «ЭФИС» г. Москвы методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с использованием реактивов Liaison® 25 OH Vitamin D Total Assay (Германия) на аппарате Liaison DiaSorin Pleutschland GmbH (Германия).

Определение концентраций β-1- и β-2 дефензинов осуществлялось в научно-исследовательской лабораторию «Нанобиотехнология и биофизика» Центра биотехнологического инжиниринга Северо-Кавказского федерального университета г. Ставрополя иммуноферментным методом («Сэндвич»-метод) с использованием набора реактивов SEB373Hu (Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for defensing-beta-1 (DEFb1)) и SEA072Hu (Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for defensing-beta-2 (DEFb2)) фирмы Cloud-Clone Corp.® (США/КНР) соответственно на мультимодальном ридере Varioskan Flash «Thermo Fisher Scientific» (США).

Оценка статуса витамина D осуществлялась согласно критериям Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» (2018 года): тяжёлый дефицит витамина D – уровень кальцидиола сыворотки менее 10 нг/мл (менее 25 нмоль/л); дефицит –от 10 до 20 нг/мл (25-50 нмоль/л); недостаточность – от 21 до 30 нг/мл (51-75 нмоль/л); оптимальный статус – более 30 нг/мл (более 75 нмоль/л); уровень с возможным проявлением токсичности – более 100 нг/л (более 250 нмоль/л) [5].

После первичного лабораторного обследования и распределения пациентов согласно их обеспеченности витамином D, детям назначались препараты холекальциферола с целью коррекции их статуса витамина D длительностью 1 месяц. Схема назначения препаратов

холекальциферола в нашем исследовании соответствовала принятому Национальной программой алгоритму использования лечебных доз холекальциферола (рис. 1).

Рис. 1. Схема назначения препаратов холекальциферола

После месяца приёма препаратов витамина D производился повторный забор крови с целью определения эффективности проводимой терапии недостаточности витамина D, а также оценки динамики АМП (β-1 и β-2 дефензинов) на фоне проводимой коррекции. Исследование завершили 72 ребёнка.

Для статистической обработки полученных результатов лабораторного исследования использовалась программа AtteStat, STATISTICA 10.0. Нами были рассчитаны среднее арифметическое значение и ошибка среднего арифметического значения (M±m) для параметрических данных; медиана (Me), 1-й и 3-й квартиль (Q1; Q3) для непараметрических данных. Для оценки достоверности различий при анализе количественных параметрических данных использовался t-критерий Стьюдента в случае нормального распределения. При аномальном характере распределения для оценки достоверности различий использовался U-критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Статус витамина D в анализируемой группе детей на 1-ом этапе исследования находился в диапазоне недостаточности – средний уровень кальцидиола сыворотки составил 27,3 ± 1,4 нг/мл, медиана – 24,8 (17,6;32,5) нг/мл. Оптимальную обеспеченность витамином D продемонстрировали 34 (31,5%) ребёнка. У 40 (37,0%) детей отмечена недостаточность, у 27 (25,0%) – дефицит, у 7 (6,5%) – выраженный дефицит витамина D.

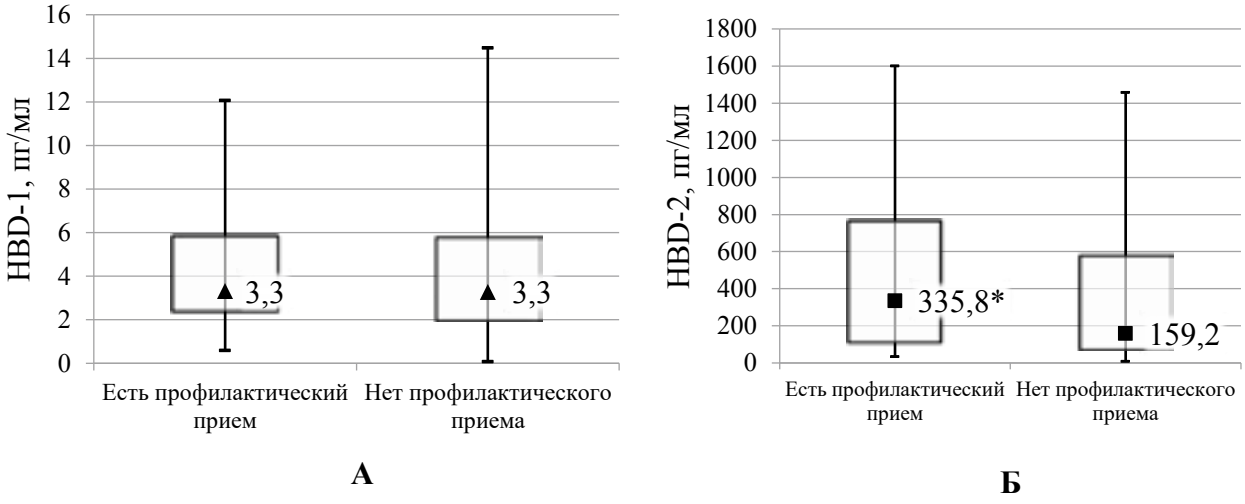
В группе детей первого года жизни отмечалась наилучшая обеспеченность витамином D: медиана 25(OH)D составила 29,95 (16,2;40,3) нг/мл, что было статистически значимо выше, чем в группе детей второго года (24,0 (21,3;29,3) нг/мл, p=0,03) и третьего года жизни (20,65

(12,8;25,0) нг/мл, p=0,002). Корреляция между концентрацией витамина D и возрастом пациентов составила r=–0,32 (p<0,001).

В группе детей первого года жизни нами был проведён анализ зависимости обеспеченности витамином D от вида вскармливания. Было получено, что дети, находящиеся на искусственном вскармливании (n=32), имели статистически значимые лучшие показатели обеспеченности витамином D по сравнению с детьми на грудном вскармливании (n=18) – 32,5 (23,9;39,1) нг/мл и 16,15 (8,6;35,0) нг/мл соответственно (p<0,05).

Медиана уровней β-1-дефензина на 1-ом этапе составила 3,3 (2,2;5,9) пг/мл, средний уровень – 4,3 ± 0,5 пг/мл. Медиана β-2 дефензина составила 240,7 (86,8;686,6) пг/мл, средний уровень – 437,1±44,4 пг/мл.

Анализ влияния исходного приёма профилактических доз препаратов холекальциферола на уровни АМП показал, что медианы β-1и β-2-дефензинов в группе детей, принимавших препараты витамина D до включения в исследование, были выше по сравнению с детьми, не получавшими витамин D, причем различия в уровнях β-2 дефензина были статистически значимыми (рис.2).



достоверность различий по сравнению с группой без сапплементации:*- p<0,05

Рис. 2. Уровни β1-дефензина (А) и β2-дефензина (Б) у детей раннего возраста в зависимости от исходного приёма препаратов холекальциферола

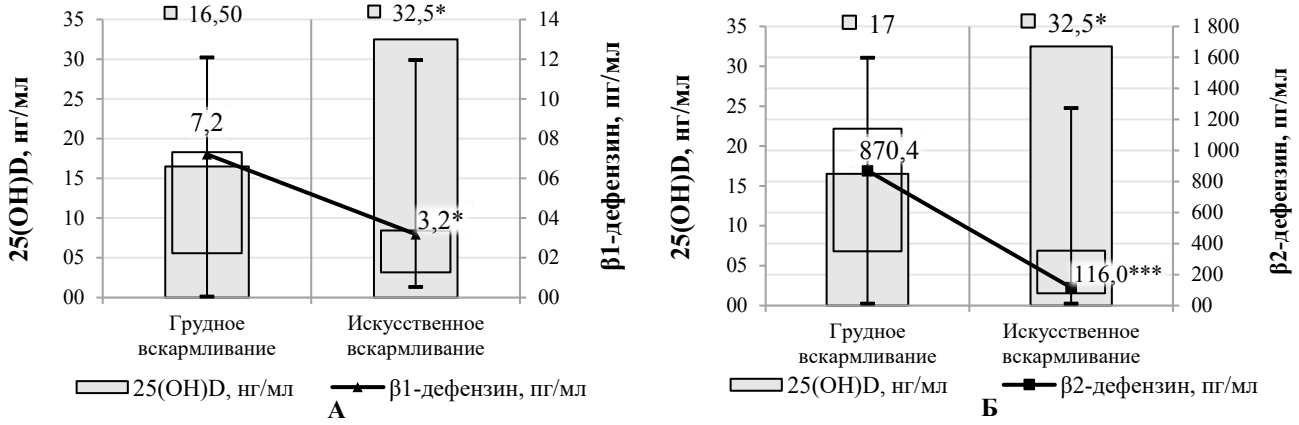
В таблице 1 продемонстрирована связь между исходной концентрацией кальцидиола сыворотки и β-дефензинов.

Таблица 1.

Уровни β-дефензинов в зависимости от исходного статуса витамина D

Статус витамина D	β1-дефензин, пг/мл	β2-дефензин, пг/мл
	Me (Q1; Q3)	Me (Q1; Q3)
Дефицит и тяжёлый дефицит, n–34	3,6 (2,1; 5,9)	570,1 (123,1; 1144)
Недостаточность, n – 40	3,9 (2,7; 4,4)	233,0 (52,2; 527,6)
Оптимальный статус, n – 34	2,6 (1,9; 3,4)	162,3 (88,3; 345,2)

При анализе описанных в таблице 1 данных установлено, что описанной в литературе прямой зависимости между исходными показателями 25(OH)D и β-дефензинов не выявлено, однако мы объясняем полученные нами результаты следующим образом. При дальнейшем анализе мы получили, что дети, находящиеся на естественном вскармливании, имеют показатели 25(OH)D ниже, в то время как уровни АМП у них заметно выше, чем у детей на искусственном вскармливании (рис.3).

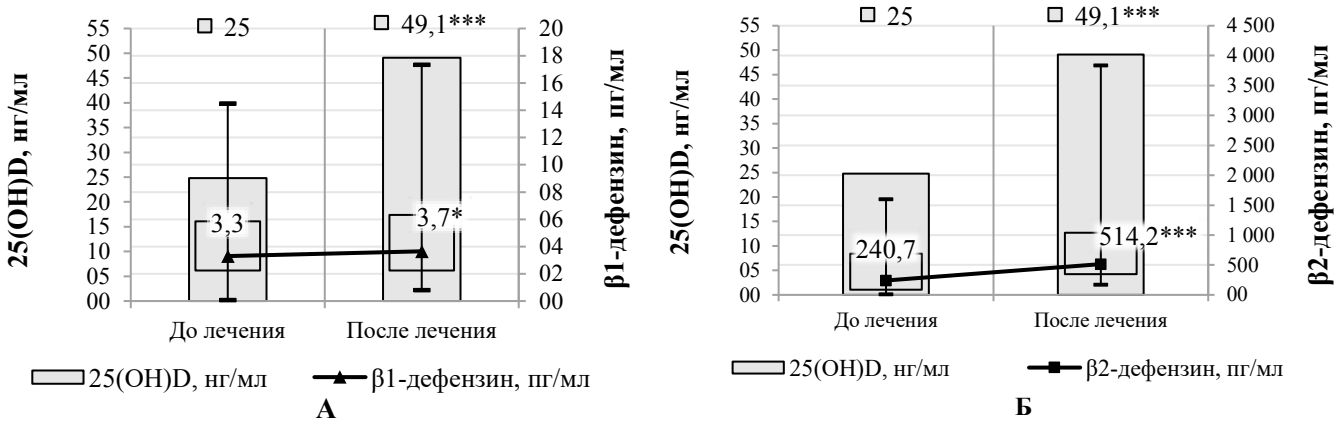


достоверность различий по сравнению с грудным вскармливанием: *- p<0,05; ***-<0,001

Рис. 3. Зависимость уровней β1-дефензина (А) и β2-дефензина (Б) от вида вскармливания среди детей первого года жизни

Среди детей с дефицитом витамина D число детей первого года жизни, находящихся на грудном вскармливании, было существенно выше, по сравнению с группами с недостаточностью и оптимальной обеспеченностью витамина D – 29,0 %, 5,0 % и 17,6 % соответственно. Таким образом, несмотря на то, что исключительно грудное вскармливание является фактором риска дефицита витамина D, в то же время, обладая мощным иммунотропным эффектом, обеспечивает синтез АМП за счёт других – не витамин D-зависимых механизмов.

Месячный курс коррекции недостаточности витамина D способствовал увеличению концентраций кальцидиола сыворотки с параллельным приростом показателей АМП (рис. 4 А-Б).



достоверность различий по сравнению со значениями до лечения: * - p<0,05; ***-<0,001

Рис. 4. Динамика кальцидиола, β1-дефензина (А) и β2-дефензина (Б) на фоне месячного курса приёма препаратов холекальциферола

Нами была получена прямая корреляционная зависимость между дозой препаратов холекальциферола и приростом β2-дефензина – r=0,34, p<0,05.

В таблице 2 представлены показатели антимикробных пептидов в зависимости от статуса витамина D у детей после месячного курса терапии препаратами холекальциферола.

Таблица 2.

Зависимость уровней β-дефензинов от обеспеченности витамином D после курса коррекции

Обеспеченность витамином D	β1-дефензин, пг/мл	β2-дефензин, пг/мл
	Me (Q1; Q3)	Me (Q1; Q3)
менее 20 нг/мл, n – 5	3,4* (3,1; 4,5)	323,5* (260,6; 708,5)
20-30 нг/мл, n– 6	4,9 (2,8; 6,8)	380,6* (238,2; 931,2)
более 30 нг/мл, n – 61	4,2 (2,2; 5,8)	522,8 (350,2; 996,1)

достоверность различий по сравнению группой оптимальной обеспеченности: *- p<0,05

По итогам месячного курса коррекции препаратами витамина D показатели АМП стали более отчётливо коррелировать с обеспеченностью витамином D. Наибольшие концентрации β-2-дефензинов были выявлены у детей с нормальной обеспеченностью, они почти в 1,4 раза выше, чем у детей с недостаточностью (p<0,05) и в 1,6 раза выше, чем у детей с дефицитом витамина D (p<0,05). Корреляционная связь между концентрацией 25(OH)D и уровнем β1-дефензина в сыворотке крови по итогам второго этапа исследования составила r=0,39 (p<0,01), а между кальцидиолом и уровнем β2-дефензина r=0,42 (p<0,01).

Выводы

Синтез антимикробных пептидов у детей раннего возраста тесно связан с обеспеченностью витамином D. Дети, регулярно принимающие профилактические дозы препаратов витамина D, имеют более высокие концентрации АМП. Среди детей, находящихся на естественном вскармливании, несмотря на худшую обеспеченность витамином D, уровни β-1- и β-2-дефензинов выше по сравнению с детьми на искусственном вскармливании, что объясняется наличием в грудном молоке иммуногенных факторов, в том числе и самих АМП. Использование лечебных доз препаратов холекальциферола в течение 1 месяца способствовало статистически значимому увеличение концентраций β-1- и β-2-дефензинов. Прирост уровня β-2-дефензина носил дозозависимый характер ($r=0,34$, $p<0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bikle DD. Vitamin D Regulation of Immune Function. Curr Osteoporos Rep. 2022; 20(3): 186–193.
2. Мальцев С.В., Рылова Н.В. Витамин D и иммунитет. Практическая медицина. 2015; 86(1): 114–120
3. Захарова И. Н., Мальцев С. В., Заплатников А. Л., Климов Л.Я., Пампура А.Н., Курьянинова В.А., Бережная И.В., Ждакаева Е.Д., Симакова М.А., Цуцаева А.Н., Долбня С.В., Верисокина Н.Е., Крушельницкий А.А., Махаева А.В., Сычев Д.А. Влияние витамина D на иммунный ответ организма // Педиатрия. Consilium Medicum. 2020; (2): 29–37.
4. Захарова И.Н., Климов Л.Я., Касьянова А.Н., Курьянинова В.А., Долбня С.В., Иванова А.В., Стоян М.В., Бобрышев Д.В., Верисокина Н.Е., Альхимиди А.А. Современные представления об иммунотропных эффектах витамина D. Вопросы практической педиатрии. 2019; 14(1): 7–17.
5. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России (и использованию витаминных и витаминно-минеральных комплексов и обогащенных продуктов в педиатрической практике) / Союз педиатров России [и др.] – М.: ПедиатрЪ. – 2017. – 152 с.
6. Снопов С.А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему // Медицинская иммунология. 2014; 16 (6): 499–530.
7. Абатуров А.Е., Завгородняя Н.Ю. Витамин-D-зависимая продукция антимикробных пептидов. Здоровье ребенка. 2012; 1: 105–111.
8. Agier J., Brzezinska-Blaszczyk E. Cathelicidins and defensins regulate mast cell antimicrobial activity. PostepyHig Med Dosw (Online). 2016; 70: 618–636.
9. Захарова И. Н., Цуцаева А. Н., Климов Л. Я., Курьянинова В.А., Долбня С.В., Заплатников А.Л., Верисокина Н.Е., Дятлова А.А., Кипкеев Ш.О., Минасян А.К., Бобрышев Д.В., Анисимов Г.С., Будкевич Р.О. Витамин D и продукция дефензинов у детей раннего возраста. Медицинский совет. 2020; 1: 158–169.
10. Касьянова А.Н. Уровень паратгормона и продукция дефензинов у детей раннего возраста в зависимости от обеспеченности витамином D: дисс. … канд.мед.наук: 14.01.08 / Касьянова Анна Николаевна. – Ставрополь, 2019. – 145 с.
11. Wang T.T., Nestel F.P., Bourdeau V. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression / // J Immunol. – 2004. – Vol.173, № 5. – P. 2909–2012.
12. Захарова И.Н., Климов Л.Я., Касьянова А.Н., Ягупова А.В., Курьянинова В.А., Долбня С.В., Батурин В.А., Бобрышев Д.В., Анисимов Г.С., Масальский С.С., Болатчиев А.Д. Роль антимикробных пептидов и витамина D в формировании противоинфекционной защиты. Педиатрия. 2017; 96(4):171–179.

ОМИК-ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ

Е.Е. Шишулина[1], Т.А. Бокова[1,2], А.М. Затевалов[3], А.С. Бевз[1]

[1]ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

[2]ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

[3]ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

Обоснование: Неалкогольная среди всех заболеваний печени, как у взрослых, так и у детей. Общеизвестные методы диагностики заболевания имеют ряд недостатков (высокая с тоимость, низкая доступность, инвазивность, низкая чувствительность при ранних сроках заболевания). В настоящее время активно развиваются методы предиктивной диагностики, в том числе на основе ОМИК-технологий. Возможность определения уникального для данной патологии соотношения концентраций компонентов метаболома человека может являться перспективным направлением в развитии доступных неинвазивных методов диагностики НАЖБП.

Цель исследования: Разработать критерии диагностики НАЖБП у детей с ожирением с использованием ОМИК-технологий на основании результатов общеклинического и биохимического анализов крови.

Методы: Данное исследование носит диагностический характер, проведено в несколько этапов: проведение инструментально-лабораторных исследований, показатели которых важны для построения моделей (общеклинический и биохимический анализы крови, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, в частности - печени), отбор соответствующих исследуемых групп пациентов, построение моделей и анализ результатов. Критерии включения: пациенты обоего пола в возрасте от 6 до 17 лет с экзогенно-конституциональным ожирением (SDS ИМТ ≥2), с признаками НАЖБП, не получавшие ранее медикаментозную терапию по поводу данного заболевания; не соблюдашие соответствующую диетотерапию (получена подпись в информированном добровольном согласии законного представителя ребенка на данное исследование). 3) В рамках плановой госпитализации на базе педиатрического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, дети с экзогенно-конституциональным ожирением были комплексно обследованы согласно действующим клиническим рекомендациям «Ожирение у детей». Результаты исследований (в частности результаты ультразвукового

исследования печени, показатели общеклинического и биохимического анализов крови) были направлены в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва, где с использованием предоставленных сведений проводился расчет диагностического критерия НАЖБП с последующим выявлением метаболического отпечатка НАЖБП. Продолжительность исследования 10 месяцев (с февраля по декабрь 2023 года). В результате разработаны критерии диагностики НАЖБП у детей с ожирением (на основе расчета диагностического критерия НАЖБП с последующим выявлением метаболического отпечатка данного заболевания применялся метод математического моделирования - линейный дискриминантный анализ).

Результаты: По результатам исследования получены диагностические коэффициенты неалкогольной жировой болезни печени, которые рассчитываются по концентрациям параметров биохимического анализа крови.

Заключение: Данная математическая модель планируется как часть скринингового исследования нарушений липидного и углеводного обмена у детей, рассчитываемого по биохимическому анализу крови при первичной диагностике.

Ключевые слова: дети, ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени, линейный дискриминантный анализ, ОМИК-технологии.

OMIK TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSIS OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN OBESE CHILDREN

Annotation

Rationale: Non-alcoholic among all liver diseases, both in adults and children. Well-known methods for diagnosing the disease have a number of disadvantages (high cost, low availability, invasiveness, low sensitivity in the early stages of the disease). Predictive diagnostic methods are currently being actively developed, including those based on OMIK technologies. The ability to determine the ratio of concentrations of components of the human metabolome, unique for a given pathology, may be a promising direction in the development of accessible non-invasive methods for diagnosing NAFLD.

Purpose of the study: To develop diagnostic criteria for NAFLD in obese children using OMIK technologies based on the results of general clinical and biochemical blood tests.

Methods: This study is of a diagnostic nature, carried out in several stages: conducting instrumental and laboratory studies, the indicators of which are important for building models (general clinical and biochemical blood tests, ultrasound examination of the abdominal organs, in particular the liver), selection of the appropriate study groups of patients, building models and analyzing results. Inclusion criteria: patients of both sexes aged 6 to 17 years with exogenous

constitutional obesity (SDS BMI ≥2), with signs of NAFLD, who have not previously received drug therapy for this disease; failure to comply with appropriate dietary therapy (a signature was obtained in the informed voluntary consent of the child's legal representative for this study). 3) As part of a planned hospitalization on the basis of the pediatric department of the State Budgetary Institution of Healthcare of the Moscow Region MONIKI named after. M.F. Vladimirsky, Moscow, children with exogenous constitutional obesity were comprehensively examined in accordance with the current clinical guidelines "Obesity in Children." The research results (in particular, the results of an ultrasound examination of the liver, indicators of general clinical and biochemical blood tests) were sent to the Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after. G.N. Gabrichevsky" Rospotrebnadzor, Moscow, where, using the information provided, the diagnostic criterion for NAFLD was calculated with the subsequent identification of the metabolic fingerprint of NAFLD. The duration of the study is 10 months (from February to December 2023). As a result, diagnostic criteria for NAFLD in obese children were developed (based on the calculation of the diagnostic criterion for NAFLD with the subsequent identification of the metabolic fingerprint of this disease, a mathematical modeling method was used - linear discriminant analysis).

Results: Based on the results of the study, diagnostic coefficients for non-alcoholic fatty liver disease were obtained, which are calculated based on the concentrations of biochemical blood test parameters.

Conclusion: This mathematical model is planned as part of a screening study of lipid and carbohydrate metabolism disorders in children, calculated from a biochemical blood test during primary diagnosis.

Key words: children, obesity, non-alcoholic fatty liver disease, linear discriminant analysis, OMIK technologies.

Обоснование

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) занимает первое место по распространенности среди всех заболеваний печени, как у взрослых, так и у детей [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**,**Ошибка! Источник ссылки не найден.**,**Ошибка! Источник ссылки не найден.**,**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Данные международного систематического обзора свидетельствуют о том, что среди детского населения частота НАЖБП составляет 7,6%, тогда как среди детей с ожирением - 34% [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Результаты собственных исследований показали, что этот показатель у детей с метаболическим синдромом достигает 70% [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. При НАЖБП возможно развитие фиброза,

цирроза и даже гепатоцеллюлярной карциномы, в связи с чем своевременная диагностика данного заболевания чрезвычайно важна.

Наиболее точным методом диагностики НАЖБП является морфологическое исследование, однако за счет инвазивности оно несет риск возможных осложнений, имеет низкую доступность и высокую стоимость. Основным неинвазивным методом диагностики НАЖБП является ультразвуковое исследование (УЗИ), однако информативность метода при начальных признаках заболевания или небольших очагах стеатоза может быть значительно снижена. Магнитно-резонансная томография (МРТ) также является высокочувствительным методом диагностики, однако её широкое использование в рутинной практике ограничено низкой доступностью, высокой стоимостью, длительностью исследования и ограничениями по массе тела пациента. Основными лабораторными критериями диагностики НАЖБП являются показатели уровня маркеров цитолиза в биохимическом анализе крови (аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ)), однако эти показатели не коррелируют с тяжестью НАЖБП и имеют низкую чувствительность на ранних стадиях заболевания (стеатоз). В последние годы разработаны различные комплексные индексы стеатоза печени (метаболический индекс (МИ), индекс висцерального ожирения (ИВО), Fatty liver disease index (FLD-I), Hepatic steatosis index (HSI)), однако значимость каждого из них при оценке состояния паренхимы печени у пациентов детского возраста не столь однозначна. В связи с этим разработка доступной, высокоэффективной и неинвазивной диагностики данной патологии в детском возрасте является актуальной проблемой современного здравоохранения.

В настоящее время активно развиваются методы предиктивной диагностики, в том числе на основе ОМИК-технологий. Возможность определения уникального для данной патологии соотношения концентраций компонентов метаболома человека может являться перспективным направлением в развитии доступных неинвазивных методов диагностики НАЖБП [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Цель исследования: Разработать критерии диагностики НАЖБП у детей с ожирением с использованием ОМИК-технологий на основании результатов общеклинического и биохимического анализов крови.

Методы

Дизайн исследования:

Данное исследование носит диагностический характер, проведено в несколько этапов: проведение инструментально-лабораторных исследований, показатели которых

важны для построения моделей (общеклинический и биохимический анализы крови, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, в частности - печени), отбор соответствующих исследуемых групп пациентов, построение моделей и анализ результатов.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование являлись:

- Пациенты обоего пола в возрасте от 6 до 17 лет;
- Экзогенно-конституциональное ожирение (SDS ИМТ ≥2);
- Признаки НАЖБП, установленные с помощью УЗИ (гепатомегалия, диффузные изменения печени, повышение эхогенности паренхимы, ослабление визуализациии сосудиситого рисунка);
- Не получаемая ранее медикаментозная терапия по поводу данного заболевания;
- Не соблюдение соответствующей диетотерапии;
- Получение подписи в информированном добровольном согласии законного представителя ребенка.

Критериями невключения в исследование являлись:

- Возраст пациента младше 6 лет;
- Синдромальные, моногенные и другие формы ожирения;
- Наличие сопутствующих заболеваний и состояний;
- Не согласие законного представителя ребенка на участие в исследовании.

Условия проведения

Инструментально-лабораторные исследования (в рамках плановой госпитализации), отбор пациентов, разделение их на группы проводились на базе педиатрического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, Россия.

Статистическая обработка и математическое моделирование результатов проводились в ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия.

Продолжительность исследования

Данное исследование проводилось в течение 10 месяцев (с февраля по декабрь 2023 года).

Описание медицинского вмешательства

В рамках плановой госпитализации на базе педиатрического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, дети с экзогенно-конституциональным ожирением были комплексно обследованы. Оценка состояния веса проводилась с помощью программы ВОЗ AnthroPlus и согласно действующим клиническим рекомендациям «Ожирение у детей», 2021 года, диагноз устанавливался, если SDS ИМТ ≥2,0. Диагноз НАЖБП был установлен по результатам ультразвуковой диагностики[**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Проводился забор венозной крови для лабораторных исследований из периферических сосудов. Данные о наличии ожирения, НАЖБП, а также показатели общеклинического (гемоглобин (HGB), эритроциты (RBC), гематокрит, тромбоциты, лейкоциты (WBC), скорость оседания эритроцитов (СОЭ)) и биохимического (глюкоза, общий белок, общий билирубин, щелочная фосфатаза (ЩФ), мочевая кислота (МК), аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ)) анализов крови были направлены в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва, где с использованием предоставленных сведений проводился расчет диагностического критерия НАЖБП с последующим выявлением метаболического отпечатка НАЖБП.

Основной исход исследования: Разработаны критерии диагностики НАЖБП у детей с ожирением.

Методы регистрации исходов

Для расчета диагностического критерия НАЖБП с последующим выявлением метаболического отпечатка данного заболевания применялся метод математического моделирования - линейный дискриминантный анализ [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Алгоритм пошагового исключения и анализа сопряженности использован для получения дискриминантной функции и координаты центроидов группы НАЖБП и группы сравнения, а также для последующего построения математической модели предиктивной диагностики НАЖБП. Кроме дискриминантной функции по алгоритму линейного дискриминантного анализа рассчитывались классификационные функции и факторная структура компонентов, задействованных в дискриминантной функции [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Этическая экспертиза

Данное исследование проведено в рамках НИР №57 «Совершенствование подходов к профилактике и лечению ожирения у детей Московской области» (Рег.№123030600011-5).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки: размер выборки пилотного исследования определен из расчета 10% ошибки выборки при 95% доверительном интервале (не менее 100 человек). Планируются дальнейшие валидационные мероприятия и укрупнение групп до уровня устойчивости модели с ошибкой не более 5% (не менее 400 человек).

Результаты

Объекты (участники) исследования

Изначально обследовано 125 детей с ожирением (SDS ИМТ ≥2) в возрасте от 6 до 17 лет. Выделено две группы: основная группа - 74 пациента с НАЖБП, группа сравнения - 51 пациент без признаков НАЖБП. Для валидации были обследованы 94 пациента, 47 из которых, относились к группе НАЖБП, а 47 к группе сравнения.

Основные результаты исследования

Для построения дискриминантного уравнения первого шага были использованы следующие данные: скорость оседания эритроцитов, мм/ч; глюкоза (венозная), ммоль/л; общий белок, г/л; общий билирубин, мкмоль/л; ЩФ, д/л; МК, мкмоль/л; АЛТ, ед/л; АСТ, ед/л; ОХ, ммоль/л; ТГ, ммоль/л; HGB, г/л; RBC, 10^{12}/л; гематокрит, %; тромбоциты, 10^{9}/л; WBC, 10^{9}/л. После нескольких итераций построения модели, анализа сопряженности и исключения компонентов, не удовлетворяющих уровню толерантности, в модель были включены: СОЭ, мм/ч; АЛТ, ед/л; триглицериды (ТГ), ммоль/л, расстояние Махалонобиса для которых по критерию Фишера имело статистическую значимость (p= 0,000002). Анализ факторной структуры показал следующее распределение факторной нагрузки между компонентами: r(СОЭ)=0,24; r(АЛТ)=0,80; r(ТГ)=0,48. Таким образом, наибольший вклад в дискриминацию групп вносит АЛТ. Диагностический коэффициент, рассчитанный на основании классификационных уравнений, имеет вид: D=0,04·СОЭ+0,95·АЛТ+0,95·ТГ-2,65, где D – диагностический коэффициент; СОЭ – значение скорость оседания эритроцитов, мм/ч; АЛТ – значение аланинаминотрансферазы, ед/л; ТГ – значение триглицеридов, ммоль/л.

Если в результате расчета диагностического коэффициента D его значение больше 0, то устанавливается диагноз НАЖБП.

На основании результатов классификации рассчитали количество корректно и некорректно идентифицированных диагнозов НАЖБП у пациентов. Аналитическая прогностическая точность модели (рассчитанная на тех пациентах, на которых обучалась модель) составила 66,4% при чувствительности 77,0% и специфичности 51,0%.

Для валидации были взяты результаты биохимического и клинического анализа крови 94 пациентов, 47 из которых, относились к группе НАЖБП, а 47 к группе сравнения. После диагностики, проведенной на основании диагностического коэффициента, была определена фактическая точность модели – 55,3% при чувствительности 59,6% и специфичности 51,1%. Разница между фактической и аналитической точностью и чувствительностью превышает 5%, что указывает на неустойчивость модели. Для увеличения устойчивости обучающую выборку дополнили валидационной и построили модель линейного дискриминантного анализа диагностики НАЖБП на объединенной выборке в 219 человек. В группу НАЖБП были определены 121 пациент с соответствующим диагнозом и в группу сравнения - 98 пациентов без НАЖБП. Для построения модели первого шага были взяты те же 15 показателей биохимического и клинического анализов крови, что и для исходной модели. После исключения показателей, не удовлетворяющих модель по параметрам толерантности в финальное уравнение, были включены: СОЭ, мм/ч; АЛТ, ед/л; ТГ, ммоль/л, WBC, 10^9/л, HGB, г/л. Статистическая значимость расстояния Махалонобиса по критерию Фишера составила $p=1{,}47 \cdot 10^{-17}$. По результатам оценки факторной структуры дискриминантной функции максимальное значение коэффициента корреляции отмечено у АЛТ (r=0,76). Таким образом, наибольший вклад в дискриминацию групп вносит значение концентрации АЛТ в крови.

Диагностический коэффициент, рассчитанный на основании классификационных уравнений, имеет вид: D=0,05·СОЭ+0,03·АЛТ+0,59·ТГ-0,18·WBC+0,03·HGB-4,73, где D – диагностический коэффициент; СОЭ – значение скорость оседания эритроцитов, мм/ч; АЛТ – значение аланинаминотрансферазы, ед/л; ТГ – значение триглицеридов, ммоль/л. WBC - лейкоциты, 10^9/л. HGB - гемоглобин, г/л. На основании результатов классификации рассчитали прогностическую точность модели – 73,1 % при чувствительности 75,2% и специфичности 70,4%.

Показатели прогностической точности и специфичности финальной модели выше, чем первичной, что указывает на необходимость дальнейшей валидации и увеличения количества групп. Наибольшую дискриминацию групп обеспечивает показатель концентрации АЛТ в крови, что ожидаемо, так как данный эндогенный фермент из группы трансфераз наиболее точно отражает выраженность поражения паренхимы печени при НАЖБП. Таким образом, с помощью диагностического коэффициента чувствительность АЛТ увеличивается за счет включения в диагностический критерий других показателей крови и нахождения уникального соотношения данных показателей, характерных для НАЖБП.

Нежелательные явления

Не отмечались.

Заключение и обсуждение

Достоинства: использование ОМИК технологий позволяет расширить и увеличить точность диагностики заболеваний за счет использования многомерной статистики и математического моделирования. Для моделирования используются результаты биохимического анализа крови, то есть дополнительного инструментального исследования не требуется. Проекционные методы статистики, к коим относится линейный дискриминантный анализ позволяют проводить скрининговую диагностику нескольких заболеваний из одного биохимического исследования.

Недостатки: Для увеличения прогностической точности и устойчивости математической модели требуется дальнейшая валидация и укрупнение групп;

1. ***Резюме основного результата исследования***

По результатам исследования получены диагностические коэффициенты неалкогольной жировой болезни печени, которые рассчитываются по концентрациям параметров биохимического анализа крови. Прогностическая точность модели составляет 66,4%, что позволяет использовать ее в качестве скринингового метода диагностики. По мере валидации и укрупнения групп возможно увеличение прогностической точности и устойчивости модели. Факторная структура компонентов модели указывает на АЛТ, как на показатель с наиболее высоким коэффициентом корреляции, который вносит наибольший вклад в дискриминацию групп. Таким образом, один из наиболее информативных факторов неалкогольной жировой болезни печени, благодаря математическим преобразованиям, соотнесенный к концентрациям других параметров биохимического анализа крови, имеет более высокую диагностическую точность. Данная математическая модель планируется как часть скринингового исследования нарушений липидного и углеводного обмена у детей, рассчитываемого по биохимическому анализу крови при первичной диагностике.

Источник финансирования

Данное исследование проведено в рамках НИР №57 «Совершенствование подходов к профилактике и лечению ожирения у детей Московской области» (Рег.№123030600011-5).

Участие авторов

Шишулина Е.Е. – сбор, систематизация, анализ и интерпретация данных, разработка концепции и дизайна исследования. Бокова Т.А. – анализ и интерпретация данных,

разработка концепции и дизайна исследования, внесение методологических правок, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение на представление рукописи. Затевалов А.М. – разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка данных, построение модели на основании дискриминантного анализа, внесение методологических поправок, проверка критически важного интеллектуального содержания. Бевз А.С. – сбор, систематизация, анализ и интерпретация данных. Все авторы внесли существенный вклад в разработку вышеизложенного материала.

Конфликт интересов: Отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. European Association for the Study of the Liver (EASL). https://easl.eu/
2. European Association for the Study of Diabetes (EASD). https://www.easd.org/
3. European Association for the Study of Obesity (EASO). https://easo.org/
4. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2016, Jun. - Vol. 64, №6. - p.1388-402. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004
5. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP [et al]. PLoS One. - 2015, Oct 29; Vol.10, №10. - e0140908. doi: 10.1371/journal.pone.0140908.
6. Метаболический синдром у детей: алгоритмы диагностических и лечебно-профилактических мероприятий. Бокова Т.А., Карташова Д.А., Бевз А.С., Бокова О.А. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2022. - Т.202, №6. - с.19–26. doi:10.31146/1682-8658-ecg-202-6-19-26.
7. Оценка степени тяжести сахарного диабета 2 типа методом микробиом-ассоциированной экспосомики у пациентов с нарушениями углеводного и липидного обмена. Затевалов А.М., Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2021. - №4. –с.43-53.
8. Неалкогольная жировая болезнь печени у детей по данным ультразвуковой диагностики. Дворяковская ГМ, Кутырева ЕН, Дворяковский ИВ, Строкова ТВ, и др. Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2012. - №4. – с.53-61.
9. Дискриминантный анализ в установлении взаимозависимости патогенетических механизмов развития гестационных осложнений при урогенитальной инфекции беременных. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Затевалов А.М., Несвижский Ю.В., и др.

Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. -Т65, №7. – с.443-53.

10. Предиктивная диагностика сахарного диабета 2 типа и сочетанной дислипидемии по анализу экспосома человека. Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Терешина Е.В., и др. Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей. Орехово-Зуево, 2021. - 40 с.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку:

Шишулина Елена Евгеньевна, [Elena E. Shishulina]; адрес: Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2 [address: 61/2 Shepkina street. 129110 Moscow, Russia]; **телефон:** 8 (926) 715 85 80; **ORCID:** 0000-0002-4858-8240; **eLibrary SPIN:** 2752-8757; **e-mail:** mixalyova.96@mail.ru

Бокова Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, доцент [Tatyana A. Bokova, Doctor of Medical Sciences]; e-mail: bta2304@mail.ru; **ORCID:** 0000-0001-6428-7424; **eLibrary SPIN:** 3740-1734.

Затевалов Александр Михайлович, доктор биологических наук [Alexander M. Zatevalov, Doctor of Biological Sciences]; e-mail: zatevalov@mail.ru; **ORCID:** 0000-0002-1460-4361; **eLibrary SPIN:** 3718-6127.

Бевз Анна Сергеевна, [**Anna S. Bevz**]; **e-mail:** bevz.imik@gmail.com; **ORCID:** 0000-0002-4954-4872; **eLibrary SPIN:** 2455-5589.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Остроумов Алексей Александрович (1845–1908)

«Главное не цель, а путь к ней»

НА ПУТИ К АМБУЛАТОРНОЙ АРИТМОЛОГИИ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИСТАЛЬНОГО БЕДРЕННОГО ВЕНОЗНОГО ДОСТУПА ДЛЯ РАННЕЙ АКТИВИЗАЦИИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ КАТЕТЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ РИТМА СЕРДЦА

А. М. Абдуллаев[1], К. В. Давтян[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г. Москва

Резюме

Цель исследования. Сравнить использование дистального бедренного венозного доступа с классическим у пациентов, направленных на криобаллонную изоляцию устьев легочных вен и имплантацию окклюзирующих устройств ушка левого предсердия.

Материал и методы. Представлены результаты рандомизированного одноцентрового открытого исследования с рандомизацией 1:1 в группу дистального бедренного венозного доступа, выполняемого с среднем сегменте бедра, и в группу стандартного доступа, выполняемого в проксимальном отделе бедренного треугольника. Доступы в обеих группах выполнялись с использованием УЗИ в реальном времени.

Результаты. В исследование включено 201 пациентов: 100 в основной группе и 101 - в контрольной. Медиана возраста составила 62 года, в 80% выполнялась криобаллонная изоляция легочных вен. Прямые оральные антикоагулянты принимали 90% пациентов. В основной группе самым частым топографо-анатомическим вариантом было расположение поверхностной бедренной вены с латеральной от артерии стороны (81%), тогда как в основной – с медиальной (81%). Все этапы процедуры успешно выполнены в обеих группах пациентов. Медиана времени на доступ в основной группе составило 30 с для правой конечности и 28 с - для левой. В группе контроля – 40 с и 38 с для правой и левой нижних конечностей, соответственно.

Непреднамеренная артериальная пункция наблюдалась в 12% в основной группе и в 9% в группе контроля. У 3 пациентов контрольной группы возникла необходимость в выполнении повторного мануального гемостаза. По данным дуплексного сканирования вен в послеоперационном периоде тромбоза не выявлено в обеих группах. Динамика болевого синдрома в спине и в области доступа имела место только при стандартном доступе.

Заключение. Использование дистального бедренного венозного доступа при катетерном лечении ФП не уступает стандартному по эффективности и безопасности, а максимально ранняя активация положительно сказывается на КЧ пациентов.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, качество жизни, криобаллонная аблация, изоляция устьев легочных вен, окклюзия ушка левого предсердия, окклюдер, ушко левого предсердия.

Список сокращений. ААТ – антиаритмическая терапия; ВАШ – визуально-аналаговая шкала; иУЛВ – изоляция устьев легочных вен; ФП – фибрилляция предсердий; КЖ – качество жизни; КБА – криобаллонная аблация; оУЛП – окклюзия ушка левого предсердия; РЧА – радиочастотная аблация.

Введение

Катетерное лечение фибрилляции предсердий (ФП) – наиболее часто выполняемый вид интервенционных вмешательств в мире, что связано с постоянно растущей заболеваемостью [10]. Множеством исследований продемонстрированы преимущества катетерной аблации над антиаритмической терапией (ААТ) в профилактике рецидивов ФП вне зависимости от формы ФП, характеристик пациента и методик изоляции устьев легочных вен (иУЛВ) [2]. Эволюция методик катетерных вмешательств привела не только к увеличению эффективности, но и к значительному повышению безопасности оперативного лечения [14]. Причем повышение профиля безопасности касается всех его аспектов – от сосудистых до частоты перикардиальных осложнений. В частности, внедрение УЗИ в стратегию сосудистого доступа позволило снизить частоту местных осложнений почти до нулевых значений, повысив при этом эффективность, например, уменьшив время [17].

Вместе с тем, увеличение количества процедур требует параллельного увеличения нагрузки на систему здравоохранения. За последние три года больничная койка стала очень важным ресурсом, что связано с глобальной пандемией коронавирусной инфекции. Проведенные раннее работы продемонстрировали относительную безопасность выписки пациентов после аблации ФП [6][3][1]. Однако, большинство исследований имеют ограничения, создающие вопросы к данной стратегии. Во-первых, в большинстве работ доступ с использованием УЗИ оставался на усмотрение оператора и не применялся у 100%. Во-вторых, ограничением является нерандомизированный характер работ. В-третьих, не до конца однозначен вопрос о сроках активизации пациентов после процедур, требующих использования интродьюсеров большого диаметра, например, криобаллонной изоляции (КБА) и имплантации устройств, окклюзирующих ушко левого предсердия (ОУЛП). Подобные процедуры должны требовать большего времени для достижения гемостаза.

К настоящему времени исследовано множество способов обеспечения сосудистого гемостаза – шовные методики (suture-of-eight), гемостатические устройства (VASCADE Device, ProGlide и др.). Однако, их использование требует дополнительных финансовых затрат, повторных визитов в клиники и вызывает опасения при необходимости в повторных процедурах.

Нами предложена альтернативная стратегия венозного доступа – на границе среднего и проксимального сегмента бедра, впервые описанная группой японских авторов под руководством S. Sato [18].

Целью нашего исследования являлось сравнение эффективности, безопасности и качества жизни пациентов при двух стратегиях доступа и разных сроках активизации пациентов в послеоперационном периоде.

Материал и методы

Дизайн исследования

Это одноцентровое открытое рандомизированное исследование, включающее пациентов, направленных на процедуры криобаллонной изоляции устьев легочных вен (КБА иУЛВ) и ОУЛП.

Рандомизация производилась в соотношении 1:1 с использованием простой рандомизации по протоколу SNOSE. Исследование выполнялось в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования был одобрен локальным Этическим комитетом центра. До включения в исследование у всех участников было получено добровольное информированное письменное согласие.

Дооперационное ведение пациентов

Антиаритмическую терапию прерывали за срок, необходимый для полного выведения препарата. Перед процедурой всем пациентам временно прерывали прием антикоагулянтной терапии.

До операции выполнялось дуплексное исследование бедренных сосудов по протоколу осмотра «3-точки» (Poin-of-care ultrasound 3-point protocol) [16].

Операционный протокол

В обеих группах пункция бедренной вены осуществлялась под УЗИ-контролем в режиме реального времени. Интраоперационно линейный трансдюссер 8МГц помещался в стерильный чехол для соблюдения асептических условий. Пункция выполнялась в короткой, длинной и поперечной осях сосудов в положении иглы in-/out-of-plane по усмотрению оператора.

При стандартном доступе выполнялась пункция общей бедренной вены до бифуркации на поверхностную и глубокую под паховой связкой. При выполнении дистального доступа пункция поверхностной бедренной вены осуществлялась ниже линии, разделяющей средний и проксимальный сегменты на расстоянии не менее 10 см от паховой складки.

После транссептальной пункции вводился нефракционированный гепарин для поддержания АСТ более 300 в течение всей процедуры.

После окончания процедуры выполнялся мануальный компрессионный гемостаз в течение 10 минут, далее на области канюляции накладываются давящие повязки. Гемостатические устройства, шовные методики, введение протамина не применялись в обеих группах.

Послеоперационное ведение

После процедуры пациенты транспортировались в палату отделения. Трансторакальная эхокардиография выполняется после операции для исключения накопления жидкости в полости перикарда, после чего возобновляется прием прямых антитромботической терапии.

Пациенты в группе стандартной пункции сохраняли горизонтальное положение тела в течение 8-12 часов, пациенты исследуемой группы активизировались через 4 часа. Давящие повязки удалялись по истечению 12 часов в обеих группах.

Оценка качества жизни, выраженности болевого синдрома и необходимость в дополнительной терапии

Интенсивность болевого синдрома оценивалась до и через 12 часов после операции посредством визуальной аналоговой шкалы (ВАШ). Для оценки КЖ использовалась русскоязычная версия опросника EQ-5D-5L.

Через 28 дней после вмешательства проводится телефонный опрос пациентов для уточнения наличия болевого синдрома в области доступа, отсроченных осложнений и необходимости в обращении за медицинской помощью.

Оценка результатов

К параметрам эффективности доступа относились: успех процедуры, определяемый как как достижение полной электрической изоляции устьев легочных вен при процедуре КБА или полную окклюзию ушка левого предсердия при процедурах ОУЛП в соответствии с критериями PASS (для WATCHMAN Device) и CLOSE (для Amlatzer Amulet Device), количество непреднамеренных артериальных пункций в процессе доступа, успех при пункции с первой попытки, и время, необходимое на обеспечение доступа к бедренной вене в секундах.

К параметрам безопасности доступа относились: количество локальных осложнений (гематом, артериовенозных фистул, псевдоаневризм), кровотечения по шкале BARC 3 типа и выше, острые задержки мочеиспускания, необходимость в повторном гемостазе в раннем послеоперационном периоде, количество инфекционных осложнений и тромбоза глубоких вен.

Показатели качества жизни пациентов включали оценку качества жизни посредством опросника EQ-5D-5L и интенсивности болевого синдрома в спине и областях пункции, измеренных по ВАШ.

Дополнительно сравнивалась необходимость в катетеризации мочевого пузыря, терапии анальгетиками/седативными средствами, необходимость в использовании интродьюсеров нестандартной длины.

Статистика

Статистический анализ выполняется на персональном компьютере с использованием программного обеспечения Stata (Версия 15, StatSoft inc., USA). Для проверки нормальности выборок с количественными переменными применялся критерий Шапиро-Уилка. Для количественных показателей определялись среднее значение и стандартное отклонение (M±SD) или медиана (Me) с интерквартильным размахом (ИКР), а для их сравнения применялись t критерий Стьюдента или U-критерий Манна-Уитни. Качественные переменные описывались абсолютными и относительными частотами (процентами). При сравнении качественных показателей использовался $\chi 2$-критерий Пирсона. Для определения взаимосвязи между параметрами был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена (r). При интерпретации данных была принята (условно) следующая классификация силы

корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции: до 0,2 – очень слабая корреляция, до 0,5 – слабая корреляция, до 0,7 – средняя корреляция, до 0,9 – высокая корреляция, выше 0,9 – очень высокая корреляция. Различия считались статистически значимыми при значении двухстороннего $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика пациентов и данные о топографо-анатомических взаимоотношениях сосудах

В анализ было включено 201 пациент, из них 101 выполнена дистальная пункция. Обе группы пациентов сопоставимы по всем параметрам (таблица 1).

Таблица 1. Клинико-демографические данные пациентов

Показатель	**Всего (n = 201)**	**Дистальная пункция (n = 100)**	**Стандартная пункция (n = 101)**	**Значение p**
Возраст, лет (Me [25;75])	62 (53 – 69)	60,5 (51 – 67,5)	63 (55 – 70)	0,142
Мужской пол, n (%)	112 (55,7)	51 (51)	61 (60,4)	0,18
Женский пол, n (%)	89 (44,3)	49 (49)	40 (39,6)	
Анамнез ФП, лет (Me [25;75])	3 (2 - 6)	4 (2 - 6)	3 (2 – 8)	0,76
Риск по CHADSVASC, балл (Me [25;75])	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	0,526
Риск по HAS-BLED, балл (Me [25;75])	1 (0 – 1)	1 (0 – 1)	1 (0 – 2)	0,098
Гипертоническая болезнь, n (%)	164 (81,6)	80 (80)	84 (83,2)	0,562
Атеросклероз, n (%)	150 (74,6)	74 (74)	76 (75,2)	0,839
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	27 (13,4)	12 (12)	15 (14,9)	0,553
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	8 (3,98)	3 (3)	5 (4,95)	0,479
Сахарный диабет, n (%)	29 (14,4)	15 (15)	14 (13,8)	0,818
ОНМК, n (%)	31 (15,4)	14 (14)	17 (16,8)	0,578
Патология выводящей системы, n (%)	55 (27,4)	26 (26)	29 (28,7)	0,666
Патология опорно-двигательного аппарата, n (%)	116 (57,7)	58 (58)	58 (57,4)	0,934

Процедура криобаллонной изоляции выполнена в 80% случаев (рисунок 1).

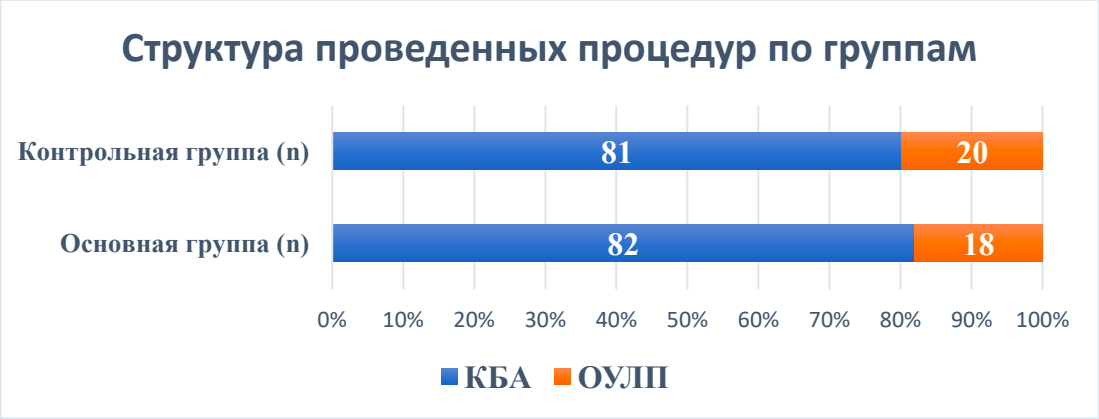


Рисунок 1. Структура выполненных процедур. КБА – криобаллонная изоляция устье легочных вен. ОУЛП – имплантация окклюзирующего устройства ушка левого предсердия

Как и следовало ожидать, поверхностная бедренная вена в группе дистального доступа залегала на большей глубине и справа (29,9±10,1 мм vs 23±7,4 мм, $p < 0,05$), и слева (30,6±9,9 мм vs 22,7±8 мм, $p < 0,05$). В группе дистального доступа чаще вена располагалась с латеральной стороны от артерии (81% для правой и 73% для левой), в контрольной группе – с медиальной (68% для правой и 84% для левой). Полное перекрытие одинаково часто встречалось в обеих группах.

Доступ выполнен на среднем расстоянии 13 см (13 – 14 см) в основной группе и 3 см (3 – 4 см) в контрольной. В соответствии с топографо-анатомическими особенностями, дистальная пункция более чем 90% выполнена с латеральной стороны, тогда как в группе контроля – с медиальной.

Параметры эффективности

Успешная пункция с первой попытки, доступ и все этапы процедуры были успешно выполнены в полном объеме в обеих группах у 100%

Справа и слева потребовалось значимо меньше времени на выполнение дистального доступа: 30 сек (22; 50 сек) vs 40 сек (30; 60 сек), $p = 0,001$ для правой и 28 сек (20; 55 сек) vs 38 сек (30; 35 сек), $p = 0,02$ для левой нижней конечности.

В основной группе непреднамеренная артериальная пункция наблюдалась у 13% для правой и у 7% для левой нижней конечности, тогда как в группе контроля – в 11% и 10% случаев. Отличия не достигали статистически значимой разницы ($p = 0,4$ и $p = 0,5$ соответственно).

Параметры безопасности и необходимость в дополнительных вмешательствах

Стабильный гемостаз был достигнут у всех пациентов в течение 10 минутной мануальной компрессии в обеих группах.

Общее количество пациентов, у которых развились осложнения, составило 9 (4,5%): 4 (4%) в основной и 5 (5%) в группе контроля. Отличия не достигали статистической значимости ($p > 0,05$).

У двоих пациентов в послеоперационном периоде развилась гематома – 1 в основной и 1 в группе контроля. Причем по данным послеоперационного ДС сосудов бедра у пациента из основной группы с гематомой диагностирована артериовенозная фистула. Ни в случае гематом, ни в случае развития АВФ показаний к дополнительным хирургическим вмешательствам не было.

В группе дистальной пункции у двух пациентов отмечалось развитие гемоперикарда в раннем послеоперационном периоде, потребовавшего дренирования без перехода в открытую хирургию.

Повторный гемостаз требовался при этом 3 пациентам из группы контроля. Острая задержка мочи с последующей катетеризацией была у 3 пациентов группы контроля (Рисунок 2).

Рисунок 2. Структура компонентов параметров безопасности по группам. АВФ – артериовенозная фистула

По данным контрольного дуплексного сканирования сосудов нижних конечностей тромбоза глубоких вен после процедуры, инфекционных осложнений не было в обеих группах.

Дополнительная терапия и необходимость в использовании нестандартного инструментария.

Необходимость в проведении дополнительных вмешательств – обезболивания в связи с развитием болевого синдрома различных локализаций и проведении катетеризации мочевого пузыря, в послеоперационном периоде была чаще в группе контроля: 11 vs 26, $p < 0,005$. Катететеризация мочевого пузыря выполнялась только среди пациентов группы контроля. В 90% случаев это были мужчины.

Качество жизни пациентов

Болевой синдром в спине и областях доступа

Количество баллов по опроснику ВАШ боли для спины и нижних конечностей в дооперационном периоде значимо не отличалось между группами: 0 баллов (0; 1) vs 0 баллов (0;1), $p = 0,8$ и 0 баллов (0; 0) vs 0 баллов (0; 0), $p = 0,6$, соответственно. В послеоперационном периоде отмечалось статистически значимое увеличение интенсивности болевого синдрома и в спине, и в

нижних конечностях в группе контроля, тогда как в основной группе данной тенденции не отмечено: 0 баллов (0; 1) vs 2 балла (0;4), p = 0,0001 и 0 баллов (0; 1) vs 1 балл (0; 2), p = 0001, соответственно.

Качество жизни пациентов

Данные опросника EQ-5D-5L

Данные сравнивались между группами как в виде суммы баллов, так и отдельно по компонентам опросника.

До операции значимой разницы по сумме баллов между группами не отмечено: 7,2 ± 2,4 vs 6,9 ± 2,1 баллов, p = 0,79. В послеоперационном периоде в группе стандартного доступа отмечалось статистически значимое увеличение суммарного балла по опроснику, что указывает на ухудшение качества жизни пациентов, тогда как в основной группе такой тенденции не отмечено: 6,6 ± 2,1 против 7,2 ± 2,4 баллов, p = 0,0028 (Таблица 3).

Таблица 3 – Динамика баллов по компонентам опросника EQ-5D-5L в основной и контрольной группах

Параметр	**Основная группа (n = 100)**		**Контрольная группа (n = 101)**	
	До	**После**	**До**	**После**
Подвижность, балл (Me [25;75])	1 (1;2)	1 (1;2)	1 (1;1)	1 (1; 2)
Уход за собой, балл (Me [25;75])	1 (1;1)	1 (1;1)	1 (1;1)	1 (1;2)
Привычная деятельность, балл (Me [25;75])	1 (1;2)	1 (1;2)	1 (1;2)	1 (1;2)
Боль/Дискомфорт, балл (Me [25;75])	1 (1;2)	1 (1;2)	1 (1;2)	1 (1;2)
Тревога/Депрессия, балл (Me [25;75])	2 (1;2)	1 (1;1)	2 (1;2)	1 (1;2)

При сравнении групп по показателю ВАШ EQ-5D-5L до операции различий не было: 80 (70; 90) vs 80 (70; 85), p = 0,4. В послеоперационном периоде отличия достигали статистически значимой разницы: 85 (80; 90) vs 80 (70; 85), p = 0,01 в пользу дистального доступа.

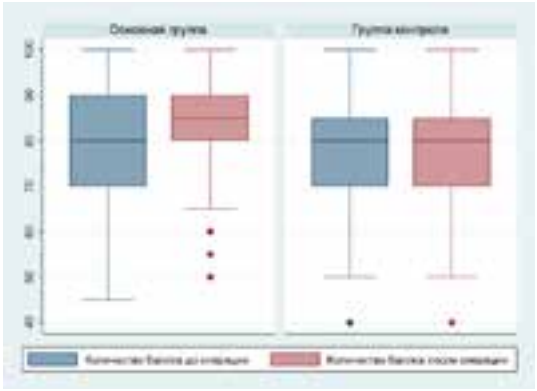


Рисунок 3. Оценка качества жизни по визуально-аналоговой шкале опросника EQ-5D-5L в до- и послеоперационном периодах

Опрос пациентов через 28 суток

По данным телефонного опроса ни один из включенных пациентов не сообщил о поздних осложнениях. Болевой синдром в нижней конечности не беспокоил пациентов обеих групп.

Обсуждение результатов

По данным исследования, дистальная пункция поверхностной бедренной вены под контролем УЗИ является эффективным и безопасным способом доступа для пациентов с фибрилляцией предсердий, позволяющим активизировать пациентов в максимально ранние сроки без дополнительных материальных затрат.

Топографо-анатомические взаимоотношения сосудов в проксимальной и дистальной частях бедренного треугольника и их влияние на параметры эффективности пункции

Степень перекрытия вены артерией оказывает значимое влияние и на удобство доступа, и на частоту послеоперационных осложнений [17], [13].

Как указывалось Baum et al. частота полного перекрытия бедренной вены может достигать 60% в проксимальной части бедренного треугольника [4]. Причем в первом литературном источнике, описывающем дистальный доступ, Shigehito Sato et al. описывали латеральное расположение поверхностной бедренной вены в 75% наблюдений на расстоянии 10 см от паховой связки [18]. Подобное наблюдение фиксируется и в нашем исследовании, а частота полного перекрытия не отличается между группами. Данные находки подтверждают гипотезу об одинаковой с точки зрения сложности технике выполнения доступа в обоих группах.

Подсчет времени на доступ имеет ряд методологических ньюансов. Во-первых, в нашем исследовании подсчет времени начинался непосредственно на этапе пункции бедренной вены. По

данным выполненных ранее работ подсчет времени проводился с момента первого взятия трансдюсера и начала сканирования области доступа, при этом не сообщалось об исключении времени на инфильтрационную анестезию [17]. Однако, время, затраченное на эти этапы, не относится именно к эффективности пункции. Во-вторых, в нашем исследовании принимали участие опытные операторы, выполняющие более 50-100 процедур.

Безопасность процедур с использованием дистального доступа и ранняя активизация пациентов

В настоящее время необходимые сроки иммобилизации пациентов после катетерных вмешательств не определены в рандомизированных исследованиях и остаются на усмотрение внутренних протоколов клиники и оператора. Из данных литературы очевидно, что количество локальных осложнений после процедур катетерного лечения ФП больше, что связано как с необходимостью в размещении большого количества интродьюсеров и антикоагулянтной терапией, так и в целом с более тяжелым профилем пациентов с ФП [9] [12]. При этом, при увеличении диаметра интродьюсера параллельно должны увеличиваться и кровотечения. Процедуры КБА и ОУЛП требуют размещения систем доставки максимально большого диаметра из доступных интервенционным аритмологам, а ведение пациентов после окклюзии ушка предусматривает еще и назначение комбинированной терапии, что опять-таки увеличивает геморрагические риски [8].

В РКИ исследовании FIRE and ICE процент сосудистых осложнений в группе РЧА был несколько больше (4,3% vs 1,9%, p = 0,09), хоть отличия и не достигали статистической значимости. По данным мета-анализа, выполненного Yi-He Chen et al., КБА обладала сходной с РЧА безопасностью и частотой локальных осложнений [5].

Несмотря на длительную практику выписки пациентов в день процедуры, вопрос о возможности выписки пациентов после КБА длительное время оставался открытым. Например, в исследовании под руководством Marc W. Deyell et al. проведение КБА было предиктором оставления пациента в стационарных условиях [6]. Далее, во множестве исследований была продемонстрирована безопасность ранней выписки после процедур КБА [3], [11], [7]. Таких же результатов удалось достичь для пациентов после ОУЛП [15].

В нашей работе активизации пациентов не зависела ни от каких параметров и характеристик пациентов. В очередной раз доказана важность ранней активизации по влиянию на качество жизни в послеоперационном периоде.

Ограничения исследования

Основным ограничение исследования является одноцентровый характер и участие хирургов с большим опытом. В настоящее время неизвестно насколько воспроизводимы результаты в реальной клинической практике.

Выводы

Использование дистального бедренного венозного доступа при катетерном лечении ФП не уступает стандартному по эффективности и безопасности. Дистальный доступ позволяет активизировать пациентов в наиболее ранние сроки послеоперационного периода, что положительно сказывается на КЖ, не требуя дополнительных затрат на лечение.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akula D. N. [и др.]. Safety of same day discharge after atrial fibrillation ablation // Journal of Atrial Fibrillation. 2020. № 5 (12). С. 1–4.

2. Asad Z. U. A. [и др.]. Catheter Ablation Versus Medical Therapy for Atrial Fibrillation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials // Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology. 2019. № 9 (12). С. 1–13.

3. Bartoletti S. [и др.]. Same-day discharge in selected patients undergoing atrial fibrillation ablation // PACE - Pacing and Clinical Electrophysiology. 2019. № 11 (42). С. 1448–1455.

4. Baum P. A. [и др.]. Anatomic relationship between the common femoral artery and vein: CT evaluation and clinical significance // Radiology. 1989. № 3 (173). С. 775–777.

5. Chen Y.-H. [и др.]. Cryoablation vs. radiofrequency ablation for treatment of paroxysmal atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis.

6. Deyell M. W. [и др.]. Efficacy and Safety of Same-Day Discharge for Atrial Fibrillation Ablation // JACC: Clinical Electrophysiology. 2020. № 6 (6). С. 609–619.

7. Deyell M. W. [и др.]. Same-day discharge for atrial fibrillation ablation: outcomes and impact of ablation modality // EP Europace. 2022. С. 1–8.

8. Glikson M. [и др.]. EHRA/EAPCI expert consensus statement on catheter-based left atrial appendage occlusion - An update // Europace. 2020. № 2 (22). С. 184.

9. Greef Y. De [и др.]. Complications of pulmonary vein isolation in atrial fibrillation: Predictors and comparison between four different ablation techniques: Results from the MIddelheim PVI-registry // Europace. 2018. № 8 (20). С. 1279–1286.

10. Holmqvist F. [и др.]. A decade of catheter ablation of cardiac arrhythmias in Sweden: Ablation practices and outcomes // European Heart Journal. 2019. № 10 (40). С. 820–830.

11. Kowalski M. [и др.]. Same-day discharge after cryoballoon ablation of atrial fibrillation: A multicenter experience // Journal of Cardiovascular Electrophysiology. 2021. № 2 (32). С. 183–190.

12. Loring Z. [и др.]. Procedural Patterns and Safety of Atrial Fibrillation Ablation: Findings from Get with the Guidelines-Atrial Fibrillation // Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology. 2020. № September. С. 897–909.

13. Mohanty S. [и др.]. Venous access-site closure with vascular closure device vs. manual compression in

patients undergoing catheter ablation or left atrial appendage occlusion under uninterrupted anticoagulation: A multicentre experience on efficacy and complications // Europace. 2019. № 7 (21). С. 1048–1054.

14. Muthalaly R. G. [и др.]. Temporal trends in safety and complication rates of catheter ablation for atrial fibrillation // Journal of Cardiovascular Electrophysiology. 2018. № 6 (29). С. 854–860.

15. Tan B. E. X. [и др.]. Safety and Feasibility of Same-Day Discharge after Left Atrial Appendage Closure with the WATCHMAN Device // Circulation: Cardiovascular Interventions. 2021. № January. С. 73–83.

16. Varrias D. [и др.]. The use of point-of-care ultrasound (Pocus) in the diagnosis of deep vein thrombosis // Journal of Clinical Medicine. 2021. № 17 (10).

17. Yamagata K. [и др.]. Ultrasound-guided versus conventional femoral venipuncture for catheter ablation of atrial fibrillation: A multicentre randomized efficacy and safety trial (ULTRA-FAST trial) // Europace. 2018. № 7 (20). С. 1107–1114.

18. sato1998.

СРАВНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ПОРАЖЕНИЯ ТАЗОБЕДРЕННЫХ СУСТАВОВ С РЕЗУЛЬТАТАМИ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ АКСИАЛЬНЫМ СПОНДИЛОАРТРИТОМ

Е.М. Агафонова, Т.В. Дубинина, Ш.Ф. Эрдес, А.В. Смирнов

E.M. Agafonova, T.V. Dubinina, Sh.F. Erdes, A.V. Smirnov

ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой», Москва

Введение. Воспалительное поражение тазобедренных суставов (ТБС) (коксит) является одним из основных факторов ранней инвалидизации пациентов с аксиальным спондилоартитом (аксСпА).

Цель. Сопоставить динамику клинических проявлений коксита с данными рентгенологического исследования ТБС у пациентов с аксСпА.

Материал и методы. В анализ вошло 62 пациентов с диагнозом аксСпА (согласно критерий ASAS 2009), наблюдавшихся не менее 2 лет. Диагноз коксита устанавливался на основании клинических признаков таких как, наличие боли в паховой области и/или ограничение движения в ТБС. Средний возраст 62 больных составил 29,2±6,4 года при средней длительности болезни 23,8±16,2 мес., позитивными по HLA-B27 были 92% больных.

Результаты: Клинические признаки коксита выявлены в начале наблюдения у 35 (56%) из 62, а через 2 года активного наблюдения - 13 (21%). При включении в исследование из 62 больных у 1 (2%) пациента выявлен рентгенологический коксит (BASRI hip ≥2). В течение периода наблюдения количество пациентов с рентгенологическим кокситом составило 13 (21%), а рентгенологическое прогрессирование в ТБС выявлено у 23 (37%) пациентов. Исходно из 35 пациентов, отмечавших боль в ТБС у 16 в течение 24 месяцев выявлено рентгенологическое прогрессирование коксита, при чем через год наблюдения боль в ТБС сохранялась только у 7, а через 24 месяца болевые ощущения отмечались только у 4 из них. Из 27 пациентов, не испытывающих на момент включения болевых ощущений в области ТБС у 7 рентгенологически выявлено развитие и прогрессирование коксита.

Заключение: Клинические признаки поражения ТБС выявляется у 50% больных с ранним аксСпА. Болевой синдром в ТБС при аксСпА только в половине случаев сопровождается рентгенологическим прогрессированием, а в 12% оно протекало бессимптомно.

МАРКЕРЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ СНИЖЕНИЕ ФРАКЦИИ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА МЕНЕЕ 50 %, У ПАЦИЕНТОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА

О.Д. Вершинина[1], Л.И. Салямова[1], Н.А. Донецкая[2]

[1]ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Пенза, Россия

[2]ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко», Пенза, Россия

Введение

Несмотря на существенные успехи в совершенствовании системы оказания медицинской помощи пациентам с инфарктом миокарда (ИМ), смертность от данной нозологии на территории Российской Федерации в 2022 г. составила 50,2 тыс. человек [1]. С каждым годом все больше признается ключевая роль магнитно-резонансной томографии (МРТ) сердца с контрастным усилением в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе ИМ [2, 3]. Подробное качественное и количественное описание поврежденного участка сердечной мышцы может способствовать внедрению персонализированного подхода в лечении и реабилитации пациентов. Помимо этого, проведение МРТ сердца в динамике позволяет своевременно диагностировать ремоделирование миокарда, что является одним из предикторов развития хронической сердечной недостаточности у пациентов в постинфарктном периоде. Так же в последние годы все большую популярность набирает спекл-трекинг эхокардиография (ЭхоКГ) с определением миокардиальной работы, расчет которой основан на построении петель «давление-деформация». На сегодняшний день показатели миокардиальной работы изучены у здоровых людей, пациентов с артериальной гипертензией, дилатационной и гипертрофической кардиомиопатией и у больных, подвергшихся ресинхронизирующей терапии [4]. Однако данные параметры и их связь с МРТ-характеристиками у пациентов в острую стадию ИМ изучены недостаточно.

Цель настоящего исследования заключалась в анализе показателей ишемического паттерна и миокардиальной работы в зависимости от глобальной систолической функции левого желудочка (ЛЖ) у пациентов с острым ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST) после реваскуляризации.

Материалы и методы

Клиническое исследование, одобренное Локальным этическим комитетом, проводили на базе кардиологического отделения с палатой реанимации и интенсивной терапии. Включено 56 пациентов с ИМпST: 53 мужчины и три женщины, средний возраст составил 56 (49; 59) лет. Все участники подписывали информированное согласие.

Критерии включения: возраст от 30 до 70 лет; первичный ИМпST, подтвержденный 12-канальной электрокардиографией, коронароангиографией и диагностически значимым повышением высокочувствительного (вч) тропонина I. Критерии исключения: стеноз ствола левой коронарной артерии более 30 %; повторный ИМ; ХСН выше II функционального класса в анамнезе; неконтролируемая артериальная гипертензия; тяжелые нарушения сердечного ритма и проводимости; сахарный диабет 1 типа или 2 типа, требующий проведения инсулинотерапии; тяжелые сопутствующие заболевания в стадии декомпенсации.

Первичное чрескожное вмешательство было выполнено у 39 больных (69,6 %), фармакоинвазивной реваскуляризации подверглись 17 (30,4 %) человек. Больные получали медикаментозное лечение по поводу ИМпST в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями.

Комплекс инструментальных обследований проводили на 7–10 сутки от начала заболевания. Пациентам выполняли МРТ сердца с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл на аппарате GE SIGNA Voyager (GE HealthCare). Для контрастирования ЛЖ использовали парамагнитный контрастный препарат Кларискан (гадотеровая кислота, GE HealthCare). Обработку изображений выполняли с использованием программы CVI42 (Circle Cardiovascular Imaging Inc.). Оценивали некоторые показатели ЛЖ, проиндексированные с учетом площади поверхности тела: конечный диастолический объем (иКДО), конечный систолический объем (иКСО), массу миокарда ЛЖ (иММЛЖ), индекс локальной сократимости (ИЛС). Паттерн ишемического повреждения анализировали по массе и объему рубцовой ткани, периинфарктной гетерогенной зоны (ПГЗ), микрососудистой обструкции (МСО) и интрамиокардиального кровоизлияния (ИМК). Глубину поражения изучали по индексу глобального контрастирования (ИГК) [5].

Трансторакальную ЭхоКГ выполняли на ультразвуковом сканере Vivid E95 (GE HealthCare, США) с обработкой изображений на EchoPAC версии 202 (GE HealthCare). Определяли следующие параметры: иКДО, иКСО, иММЛЖ, фракцию выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) по методу Simpson biplan. В автоматическом режиме рассчитывали следующие показатели миокардиальной работы: GWI (Global Work Index, мм рт.ст. %) – индекс глобальной работы, GCW (Global Constructive Work, мм рт.ст. %) – глобальная конструктивная работа, GWW (Global Wasted Work, мм рт.ст. %) – глобальная потерянная работа, GWE (Global Work Efficiency, %) – эффективность глобальной работы [6, 7].

Измерение уровня N-терминального фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида (NTproBNP) оценивали в крови на 7–10 сутки. ВчТропонин I регистрировали в динамике, в работе представлены максимальные значения. Статистический анализ осуществляли в программе STATISTICA 13 (StatSoft). Количественные данные

представлены как медиана и межквартильный размах (Me (Q25%; Q75%)). Значимость различий между данными оценивали критерием Манна-Уитни. Качественные данные сравнивали с помощью критерия χ^2. Логистический регрессионный анализ использовали для выявления переменных, предсказывающих снижение ФВ ЛЖ. Статистически значимым считалось значение $p<0,05$.

Результаты исследования

Все обследуемые на 7-10 сутки после ИМпST по результатам ЭхоКГ были разделены на группы: 1-я группа «ФВ ≥50 %» – 36 пациентов (64,3 %); 2-я группа «ФВ <50 %» – 20 (35,7 %) человек. Сравниваемые лица не различались по возрасту, полу, индексу массы тела, стратегии восстановления коронарного кровотока, времени вмешательства (табл. 1).

При межгрупповом анализе МРТ-характеристик ЛЖ были обнаружены различия (табл. 2). Так, у пациентов группы «ФВ <50 %» значения ИММЛЖ и ИЛС преобладали по сравнению с группой «ФВ ≥50 %». При анализе параметров ишемического повреждения выявлено, что пациенты с умеренно сниженной и низкой ФВ имели более высокие значения массы и объема рубцовой ткани и ПГЗ (табл. 2). Стоит указать, что зона ишемического повреждения в группе ФВ ≥50 %, включающая рубцовую ткань и ПГЗ, занимала в среднем 14,3 (6,6; 31) % от общей массы миокарда. У больных с ФВ <50 % она оказалась в 2 раза больше, составив 31,3 (16,3; 44,2) % ($p=0,033$). Наименьшие значения ИГК, характеризующего глубину поражения миокарда, отмечены в 1-й группе.

При анализе показателей миокардиальной работы выявлены более высокие значения GCW у пациентов с сохраненной ФВ ЛЖ, в то время как GWW преобладала в группе «ФВ <50 %». Так как вычисление GWE основано на значениях GCW и GWW, соответственно, показатель был ниже у пациентов с умеренно сниженной и низкой ФВ ЛЖ. Параметр GWI, характеризующий площадь петли «давление-деформация», у больных с ФВ <50 % имел наименьшие значения при межгрупповом анализе (рис. 1).

По результатам однофакторного логистического регрессионного анализа выявлены следующие независимые переменные, характеризующие наличие сниженной ФВ ЛЖ <50 % по ЭхоКГ в острую стадию ИМ. Среди показателей МРТ наиболее высокие значения коэффициента регрессии β (>0,400) отмечены для ИЛС и ИГК. Менее выраженная связь наблюдалась для следующих характеристик: общая масса ишемического повреждения, масса рубцовой ткани, масса ПГЗ, а также масса МСО. Низкие значения GCW, GWI, GWE и высокий уровень GWW ассоциировалась с ФВ ЛЖ <50 %. Из лабораторных параметров только вч Тропонин I продемонстрировал значимую роль в снижении ФВ <50 %.

Обсуждение

Определение сократительной способности сердечной мышцы с помощью ФВ ЛЖ после острого ИМ является одной из основных задач в клинической практике. Однако данный параметр имеет некоторые ограничения, включая низкую чувствительность, зависимость от пред- и постнагрузки на сердце, которые ставят под угрозу его надежность и полезность в качестве комплексной оценки сердечной функции.

В настоящее время МРТ сердца позволяет с высокой точностью оценить некоторые характеристики инфарктной зоны, такие как локализация, размер, масса, объем и глубина поражения [8]. С помощью показателей миокардиальной работы, в свою очередь, можно оценить эффективность сокращения ЛЖ.

В соответствии с разработанной методикой Russell K. et al., работа миокарда ЛЖ определяется на основе петли «давление-деформация», получаемой по результатам сфигмоманометрического измерения артериального давления на плечевой артерии и спекл-трекинг ЭхоКГ [4]. Этот метод успешно нивелирует влияние постнагрузки на ЛЖ при определении деформационных характеристик миокарда, и может быть использован при оценке сократительной способности миокарда ЛЖ [9, 10].

По результатам настоящего исследования снижение ФВ ЛЖ <50 % сопровождалось большими значениями массы ишемического повреждения, в том числе рубцовой ткани и ПГЗ, а также МСО по данным МРТ сердца. Кроме того, ФВ ЛЖ <50 % ассоциировалась с низкими значениями GCW, которая отражает укорочение кардиомиоцитов во время систолы и их удлинение в фазу изоволюметрического расслабления. Снижение GWW по сравнению с референсными значениями у здоровых людей свидетельствует об избыточном удлинении кардиомиоцитов во время систолы и чрезмерном их укорочении в фазу изоволюметрического расслабления. Эти события закономерно влияют на полноценность контрактильной функции миокарда, сопровождаясь снижением GWE и GWI у пациентов с ИМ и ФВ <50%.

Работ, посвященных изучению подобной когорты пациентов, в современной литературе не так много. Отметим, что в исследовании Mahdiui M.E. et al. выявлена прямая зависимость между миокардиальной работой и глубиной поражения миокарда [11]. В нашем исследовании по результатам регрессионного анализа снижение ФВ ЛЖ <50 % было связано с увеличением глубины поражения миокарда при анализе ИГК и ухудшением показателей миокардиальной работы.

Кроме того, ухудшение ФВ ЛЖ ассоциировалось с более высокими значениями вч тропонина I, что находит свое подтверждение в исследовании Мочулы О.В. и соавт., где отмечена положительная зависимость между уровнем биомаркера и размером инфарктной зоны [5].

Заключение

Ухудшение сократительной способности сердечной мышцы в острую стадию ИМ ассоциировано с большими размерами инфарктной и гетерогенной зон, МСО, увеличением ИЛС и ИГК по данным МРТ, а также ухудшением показателей миокардиальной работы по результатам ЭхоКГ.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №23-75-01078.

ЛИТЕРАТУРА

1. Здравоохранение в России. 2023: Стат.сб. / Росстат. М., 2023. 179 с.

2. Souto, A. L. M., Souto, R. M., Teixeira, I. C. R., & Nacif, M. S. Myocardial Viability on Cardiac Magnetic Resonance // Arquivos brasileiros de cardiologia. 2017. Vol.108, №5. P. 458–469. doi.org/10.5935/abc.20170056

3. Кухарчик Г.А., Павлова А.М., Митрофанов Н.А. Возможности магнитно-резонансной томографии сердца при инфаркте миокарда // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2012. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnosti-magnitno-rezonansnoy-tomografii-serdtsa-pri-infarkte-miokarda (дата обращения: 25.01.2024).

4. Russell K., Eriksen M., Aaberge L. et al. A novel clinical method for quantification of regional left ventricular pressure-strain loop area: a non-invasive index of myocardial work // Eur Heart J. 2012. № 33. P. 724-733

5. Мочула О. В., Сулейманова А. С., Сухарева А. Е. [и др.]. Взаимосвязь степени повреждения миокарда по данным магнитнорезонансной томографии сердца с контрастированием и лабораторных данных у пациентов с острым инфарктом миокарда // Российский кардиологический журнал. 2022. №11. С.30-38. doi:10.15829/1560-4071-2022-5226.

6. Иванов С.И., Алёхин М.Н. Неинвазивные показатели работы миокарда в оценке систолической функции левого желудочка // Кардиология. 2020. №3. С.80–88. doi: 10.18087/cardio.2020.3.n925.

7. Moya, A., Buytaert D, Penicka. [et al.]. State-of-the-Art: Noninvasive Assessment of Left Ventricular Function Through Myocardial Work // Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography. 2023. Vol. 36. №10. P.1027-1042. doi:10.1016/j.echo.2023.07.002

8. Тереничева М.А., Шахнович Р.М., Стукалова О.В., Певзнер Д.В., Арутюнян Г.К., Демченкова А.Ю. [и др.]. Взаимосвязь клинических и лабораторных показателей с развитием прогностически неблагоприятных характеристик инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST по данным магнитно-резонансной томографии сердца с контрастированием // Кардиология. 2021. Т. 61. №1. С. 44–51. DOI: 10.18087/cardio.2021.1.n1373

9. Yingchoncharoen T., Agarwal S., Popovic ZB., Marwick TH. Normal ranges of left ventricular strain: a meta-analysis // J Am So Echocardiogr. 2013. № 26. P. 185-191.

10. Иванов С.И., Алёхин М.Н. Клиническое применение неинвазивных показателей работы миокарда левого желудочка // Медицинский алфавит. 2022. № 33. С. 13-18 doi.org/10.33667/2078-5631-2022-33-13-18

11. Mahdiui M.E. [et al.]. Myocardial Work, an Echocardiographic Measure of Post Myocardial Infarct Scar on Contrast-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance // The American journal of cardiology. 2021. Vol. 151/ P/ 1-9. doi:10.1016/j.amjcard.2021.04.009

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп

Показатель	ФВ ≥50 % (n=36)	ФВ <50 % (n=20)	p
Возраст, лет	56 (50,5; 59)	56,5 (46; 60)	0,798
Женщины, n (%)	2 (6)	1 (5)	0,877
Мужчины, n (%)	34 (94)	19 (95)	0,877
ИМТ, кг/м^2	27,3 (25,6; 29,5)	26,5 (25,4 (31,1)	0,905
ФИР, n (%)	11 (31)	9 (45)	0,296
пЧКВ, n (%)	25 (69)	11 (55)	0,296
Время «Боль-ЧКВ», мин	225 (125; 340)	277,5 (147,5; 435)	0,491
Систолическое АД, мм рт.ст.	124,5 (118; 130)	120 (115; 127,5)	0,293
Диастолическое АД, мм рт.ст.	80 (74,5; 81)	75 (70; 80)	**0,041**
ЧСС, в мин	71 (60; 76)	67,5 (62; 74,5)	0,753

Примечание: данные представлены в виде Me (Q 25%; Q 75%); p – достоверность.

Сокращения: ИМТ – индекс массы тела, ФИС – фармакоинвазивная реваскуляризация, пЧКВ – первичное чрескожное коронарное вмешательство, АД – артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Таблица 2. Показатели МРТ сердца в группах сравнения

Показатель	ФВ ≥50% (n=36)	ФВ <50% (n=20)	p
Стандартные показатели МРТ сердца			
иКДО, мл/м^2	75,3 (66,3;84,6)	75,4 (59,3; 97,3)	0,959
иКСО, мл/м^2	31,3 (27,8; 38,4)	36 (26,5; 46)	0,321
иММЛЖ, г/м^2	55,95 (50,7; 67,6)	69,3 (57,8; 73)	0,010
ФВ, %	55,7 (52,6; 60)	49,8 (43,5; 52,1)	<0,001
ИЛС	1,3 (1,1; 1,5)	1,9 (1,4; 2,2)	0,002
Параметры ишемического повреждения по данным МРТ сердца			
Масса рубца, г	9,69 (3,2; 19,8)	27,2 (9; 44,4)	0,018
Объем рубца, мл	9,2 (3,05; 18,9)	25,9 (8,6; 42,3)	0,018
Масса ПГЗ, г	8,2 (3,5; 13,5)	13,7 (10,4; 20,7)	0,016
Объем ПГЗ, мл	7,8 (3,4; 12,9)	13 (9,9; 19,7)	0,016
Масса МСО, г	1,4 (0,6; 3,2)	3,1 (3; 8,3)	0,200
Объем МСО, мл	1,4 (0,6; 3)	2,98 (2,8;7,9)	0,203
Масса ИМК, г	1,8 (1; 2,1)	3,3 (1,2; 5)	0,891
Объем ИМК, мл	1,7 (1; 2,1)	3 (1; 4,9)	0,898
ИГК, %	14 (7,4; 20,6)	29,4 (19,9; 32,4)	**0,003**

Примечание: данные представлены в виде Me (Q 25%; Q 75%); p – достоверность.

Сокращения: иКДО – индекс конечного диастолического объема, иКСО – индекс конечного систолического объема, ИГК – индекс глобального контрастирования; ИЛС – индекс локальной сократимости, ИМК – интрамиокардиальное кровоизлияние, иММЛЖ – индекс массы миокарда, МРТ – магнитно-резонансная томография, МСО – микрососудистая обструкция, ПГЗ – периинфарктная гетерогенная зона, ФВ – фракция выброса.

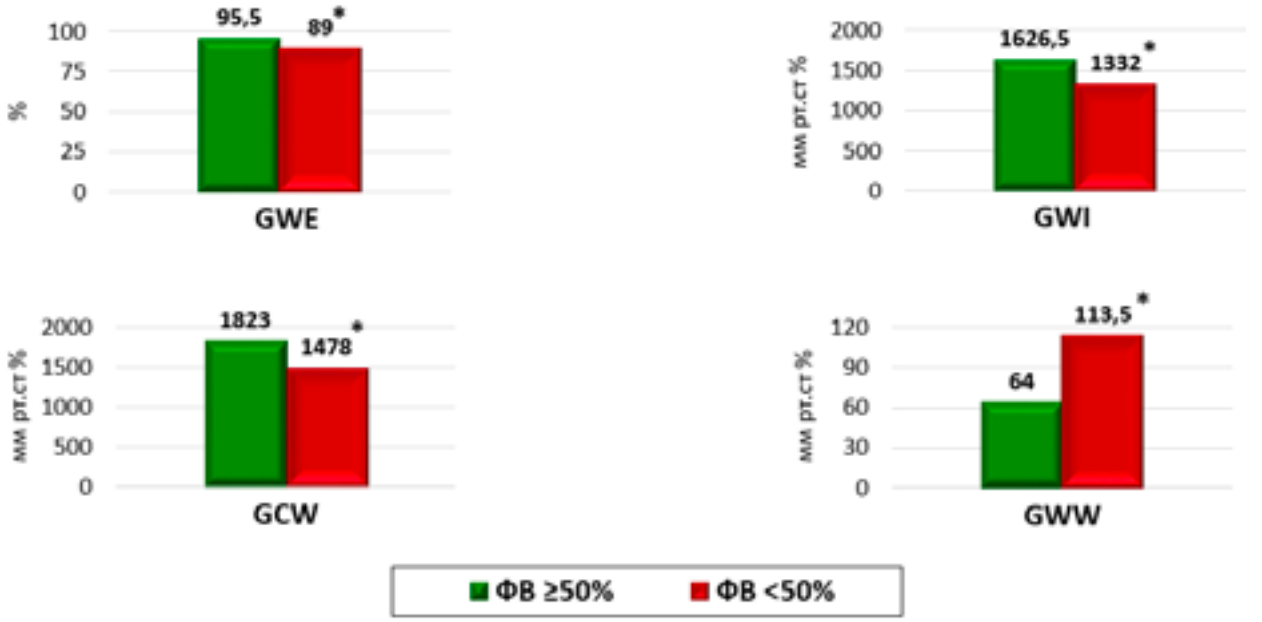


Рис. 1 Неинвазивные показатели миокардиальной работы

Примечание: * – p <0,05.

Таблица 3. Факторы, характеризующие сниженную ФВ ЛЖ <50% по ЭхоКГ в острую стадию ИМпST

Показатель	**β**	**SE**	**B**	**p**
Масса ишемического повреждения, г	0,394	0,125	0,008	**0,003**
Масса рубцовой ткани, г	0,375	0,126	0,009	**0,004**
Масса периинфарктной гетерогенной зоны, г	0,306	0,130	0,019	**0,022**
Наличие микрососудистой обструкции	0,115	0,135	0,114	0,397
Масса микрососудистой обструкции, г	0,340	0,128	0,047	**0,010**
Наличие интрамиокардиального кровоизлияния	0,015	0,136	0,021	0,911
Масса интрамиокардиального кровоизлияния, г	0,123	0,135	0,063	0,367
Индекс глобального контрастирования, %	0,445	0,122	0,015	**0,001**
Индекс локальной сократимости	0,501	0,118	0,515	**<0,001**
Эффективность миокардиальной работы, %	-0,383	0,126	-0,022	**0,004**
Индекс глобальной работы, мм рт.ст. %	-0,366	0,127	<0,001	**0,006**

Глобальная полезная работа, мм рт.ст. %	-0,395	0,125	<0,001	**0,003**
Глобальная потерянная работа, мм рт.ст. %	0,294	0,130	0,001	**0,028**
вчТропонин I, пг/мл	0,324	0,129	<0,001	**0,015**
NTproBNP, пг/мл	-0,045	0,154	<0,001	0,772

Примечание: β – коэффициент регрессии, B – угловой коэффициент, характеризующий величину, на которую в среднем изменится признак при увеличении переменной на единицу своего измерения, p – достоверность.

Сокращения: вч – высокочувствительный тропонин I, NTproBNP – N-терминальный фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПО МНЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С ПСОРИАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

Л.Д. Воробьева[1], Т.В. Коротаева[1], Е.Ю. Логинова[1], Ю.Л. Корсакова[1], Е.Е. Губарь[1]

L.D. Vorobyeva[1], T.V. Korotaeva[1], E.Yu. Loginova , Yu.L. Korsakova[1], E.E. Gubar[1]

[1]ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, Москва

Введение

Многообразие клинических проявлений псориатического артрита (ПсА) приводит к значительному ухудшению состояния здоровья пациентов, в том числе и качества жизни, связанного со здоровьем (КЖСЗ). В 2016 году согласно рекомендациям группы GRAPPA, врачу по мимо стандартной ревматологической оценки пациента, необходимо проводить оценку состояния здоровья по мнению пациента (ОСЗМП) для своевременной коррекции терапии.

Цель исследования

Оценить состояние здоровья по мнению пациентов с ПсА и определить взаимосвязь с клиническими фенотипами (периферический артрит, энтезиты, дактилиты, тяжесть псориаза, аксиальное поражение, псориатическая ониходистрофия).

Материалы и методы

В исследование включено 172 пациента с ПсА (м/ж (n/%)= (52,3)/ 82(47,7)), соответствующие критериям CASPAR (2006). Средний возраст 45,1±11,8 лет, длительность ПсА 113,1±80,4 месяца, псориаза – 246,1±147,7 месяца, активность заболевания по DAPSA - 28±22,2. Проводилось стандартное ревматологическое обследование и ОСЗМП. На момент включения в исследование энтезиты наблюдались в 41,7%, дактилиты – 41,1%, тяжелый псориаз в 36,6% случаев. ОСЗМП включала в себя: выраженность боли и оценку активности заболевания пациентом по визуальной аналоговой шкале от 0 до 10 см, индексы BASDAI, HAQ, FACIT-F, EQ-5D, PsAID-12.

Результаты

Результаты показали, что пациенты с периферическим артритом, аксиальным поражением, энтезитами и тяжелым псориазом достоверно по всем измеряемым шкадам ($p<0,0001$). У пациентов с дактилитами достоверно хуже отмечалась оценка боли ($p<0,0001$), чаще выявлялись функциональные нарушения ($p=0,005$), выше оценка активности своего заболевания по индексу BASDAI ($p=0,002$), остальные показатели были сопоставимы с пациентами без дактилитов. В группе с псориатической ониходистрофией выявлена выше активность заболевания по BASDAI ($p=0,0002$), выраженная усталость ($p<0,0001$).

Заключение

Таким образом, некоторые клинические фенотипы ПсА (периферический артрит, энтезиты, аксиальное поражение, тяжелый псориаз) оказывают значительное влияние на ОСЗМП, что наряду с оценкой врачом активности заболевания, клиническими и лабораторными проявлениями может позволить оценить эффективность терапии и своевременно ее скорректировать.

СУТОЧНЫЙ ПРОФИЛЬ АРТЕРИАЛЬНОЙ РИГИДНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТЬЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ И С РАЗЛИЧНЫМИ ФЕНОТИПАМИ

Н.А. Кароли, О.Т. Зарманбетова

Согласно результатам исследований последних лет, риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у пациентов с бронхиальной астмой (БА) выше, чем в общей популяции. Раннее выявление повреждения органов-мишеней важно для своевременной профилактики ССЗ и одним из таких органов является сосудистая стенка. Повышение артериальной ригидности (АР) является независимым предиктором сердечно-сосудистых осложнений.

Целью исследования явился анализ суточного профиля артериальной ригидности у пациентов с БА с различной тяжестью заболевания и с различными фенотипами.

В исследование включены 100 пациентов с БА, из них 37 мужчин и 63 женщины, средний возраст составил 53,8±6,9 лет. Преобладали пациенты с тяжёлым (48%) и среднетяжелым (47%) течением заболевания (GINA, 2015 г.). Всем проводилось суточное мониторирование артериального давления и артериальной ригидности с использованием аппарата BPLab МнСДП-2 (ООО «Петр Телегин», Россия).

У пациентов с БА выявлено повышение артериальной ригидности, о чём свидетельствуют повышение скорости распространения пульсовой волны, индекса аугментации за сутки, дневные и ночные часы. Повышение АР отмечено по мере нарастания тяжести бронхиальной астмы. Пациенты с тяжелым течением астмы и ожирением представляют группу риска по развитию повышенной АР. Повышение жесткости сосудистой стенки отмечалось уже у больных с избыточной массой тела.

Повышение параметров АР отмечено у пациентов с БА независимо от наличия АГ, однако у пациентов с БА и сопутствующей АГ показатели жесткости достоверно превышали аналогичные параметры у больных БА без АГ.

Учитывая доказанную прогностическую ценность параметров артериальной ригидности, их исследование у больных БА позволит как можно раньше оценить кардиоваскулярный риск и предпринять профилактические меры.

ПОИСК ДОГОСПИТАЛЬНЫХ НЕИНВАЗИВНЫХ ПРЕДИКТОРОВ НЕЭФФЕКТИВНОСТИ КАТЕТЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕКЛАПАННОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

П.Д. Злобина[1*]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, Москва, 101990, г. Москва, Петроверигский пер., 10, стр.3

*****_e-mail:_ paska0@mail.ru

Аннотация

Фибрилляция предсердий (ФП) является самой распространённой аритмией с высоким риском тромбоэмболических осложнений. Катетерная аблация является эффективным методом лечения ФП в случае расположения аритмогенного очага в легочных венах (ЛВ) и малоэффективным при расположении аритмогенного очага вне ЛВ (субстратная ФП). На данный момент неизвестны биомаркеры ФП из ЛВ или субстратной ФП, которые могли бы оценить возможную эффективность аблации на догоспитальном этапе.

Цель исследования: определить посредством протеомного анализа биомаркеры ФП из легочных вен (ЛВ) и субстратной ФП

Материал и методы. Данное исследование случай-контроль включало в себя когорту 1 с пациентами с ФП и когорту 2 – бессимптомные, здоровые добровольцы. Для выявления белков-кандидатов из когорт 1 и 2 были выбраны две субгруппы мА и мВ для проведения сравнительного протеомного профилирования сыворотки с использованием микрочипов на основе антител. Для подтверждения выявленных белков-кандидатов, из когорт 1 и 2 были выбраны большие группы А (с ФП) и В (контроль) с целью валидации методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА). Доли пациентов определяли титр антител к ядрам кардиомиоцитов, к антигенам эндотелия, кардиомиоцитов, гладкой мускулатуры, волокон проводящей системы.

Результаты. Проведенный анализ с помощью микрочипов выявил повышенное содержание структурных белков аденовируса (AdV) различных типов в субгруппе мА по сравнению с субгруппой мВ, что указывает на потенциальную значимость AdV-инфекции для ФП. Было показано, что доля лиц, положительных по IgG к AdV в группе А с ФП, почти в 2 раза выше, чем в группе В (добровольцы); отношение шансов (ОШ) 2,06 (95% доверительный интервал (ДИ): 1,11–3,84; P = 0,02). Доля лиц с ожирением была примерно в 3 раза выше у пациентов с положительным статусом по IgG к AdV по сравнению с отрицательными статусом по IgG к AdV в группе А с ФП; ОШ 2,7; (95% ДИ: 1,02–7,1; P = 0.04). Титр антител к проводящей системе сердца достоверно различался между группами пациентов с субстратной ФП и вено-зависимой ФП (P= 0,029). Однако достоверной

взаимосвязи выявлено не было между титром антител к проводящей системе сердца и статусом к IgG к AdV.

Заключение: Ad-инфекция - возможный этиологический фактор ФП и ФП, в свою очередь, связана с ожирением. Различий между группами пациентов с субстратной ФП и ФП из ЛВ по статусу к IgG к AdV не было выявлено, поэтому IgG к AdV не могут служить маркером для оценки эффективности катетерного вмешательства на дооперационном этапе. Так же не было выявлено взаимосвязи между титром IgG к миокарду и IgG к AdV.

Ключевые слова: Микрочип; фибрилляция предсердий; ожирение; аденовирусная инфекция; протеомный анализ; антитела к миокарду

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности

Источник финансирования научного исследования – бюджетное финансирование.

Сокращения:

AdV - аденовирус, ГБ – гипертоническая болезнь, ИБС – ишемическая болезнь сердца, IgG – иммуноглобулины G, ЛВ – легочные вены, СД – сахарный диабет, ТИА – транзиторная ишемическая атака, тИФА – твердофазный иммуноферментный анализ, ФП – фибрилляция предсердий, ЭКГ – электрокардиограмма.

Введение

Фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенным нарушением ритма сердца в популяции, с распространенностью в европейской части Российской Федерации — 2,04% [1], ассоциированным с развитием сердечной недостаточности, кардиоэмболическим инсультом и внезапной смертью. Доказана роль эктопической активности муфт из легочных вен (ЛВ) в патогенезе ФП [2], что привело к распространению катетерной изоляции этих высокочастотных очагов муфт ЛВ в качестве «золотого стандарта» лечения ФП. Однако остается достаточно случаев неэффективности катетерного лечения ФП при эффективной изоляции устьев ЛВ, что связывают с распространением аритмогенного субстрата вне легочных вен (субстратная ФП). Существует множество теорий о вкладе воспалительных и аутоиммунных процессов в структурном и электрическом ремоделировании предсердий с последующим рецидивированием ФП, однако на сегодняшний день не выявлено каких-либо конкретных лабораторных или инструментальных предикторов, предсказывающих развитие субстратной ФП и, как следствие, заведомую неэффективность катетерного лечения ФП на догоспитальном этапе.

Целью данной работы является определение клинико-морфологических, биохимических предикторов ФП из ЛВ и субстратной ФП.

Материалы и методы

Пациенты: Настоящее исследование включало две когорты: когорта 1 включала пациентов с ФП (N = 197), а когорта 2 включала бессимптомных, здоровых добровольцев (N = 208).

В когорту 1 с ФП вошли пациенты, находившиеся на лечении в НМИЦ ТПМ Минздрава России, Москва. Этим пациентам до операции выполнялся забор венозной крови с хранением в Биобанке НМИЦ ТПМ с целью последующего протеомного профилирования и валидации полученных биомаркеров, части пациентов определялись антитела к миокарду. Далее пациентам была проведена первичная криобаллонная аблация легочных вен (ЛВ) с использованием криобаллона диаметром 28 мм (Arctic Front Advance, Medtronic, США) с одновременной установкой петлевого регистратора электрокардиограммы (ЭКГ) (Reveal Linq, Medtronic, США и SJM Confirm, Abbott, США) с апреля 2017 г. по декабрь 2022 г. Все пациенты были старше 18 лет с парокизмальной/ персистирующей формой ФП. Протокол исследования соответствовал требованиям Хельсинкской декларации и рекомендациям ВОЗ, был одобрен Независимым этическим комитетом НМИЦ ТПМ (номер 01-06/17, 2 февраля 2017 г.). Критерии включения и исключения исследования описаны на сайте ClinicalTrials.gov [регистрационный номер NCT05170607; обзор протокола представлен в нашей предыдущей публикации [3].

Период наблюдения продолжительностью 12 месяцев включал плановые визиты через 3, 6 и 12 месяцев после аблации для мониторинга и прекращения антиаритмической терапии (за исключением бета-блокаторов) через 3 месяца. Во время визитов оценивалось наличие рецидивов ФП по данным имплантированного петлевого регистратора ЭКГ, при этом рецидивы ФП в течение первых 3 месяцев после операции не учитывались. Пациентам с рецидивами ФП проводилось инвазивное электрофизиологическое исследование для оценки эффективности изоляции ЛВ - при отсутствии изоляции ЛВ пациентам была проведена повторная радиочастотная аблация ЛВ. После повторной операции продолжали наблюдение в течение 12 месяцев. По результатам наблюдения пациенты распределялись по двум группам: ФП из ЛВ и субстратную ФП. В группу ФП из ЛВ направлялись пациенты с эффективной первичной или повторной аблацией. В группу субстратной ФП направлялись пациенты 1) с рецидивом ФП после первой аблации, но с изолированными ЛВ по данным электрофизиологического исследования; 2) или с рецидивом ФП после повторной аблации.

Субгруппа (мА) была выбрана из когорты 1 (с ФП) с целью выбора белков-кандидатов методом протеомного профилирования. Большая группа А была выбрана из когорты 1 (с ФП) с целью подтверждения, полученного методом протеомного анализа, результата альтернативным методом тИФА [рис. 1].

В когорту 2 вошли бессимптомные, здоровые добровольцы старше 18 лет. Эта когорта была описана ранее [4]. Субгруппа (мВ) была выбрана из когорты 2 (добровольцы) для протеомного

профилирования. Большая группа В была выбрана из когорты 2 для подтверждения результатов, полученных методом протеомного анализа с помощью альтернативного метода тИФА [рис. 1].

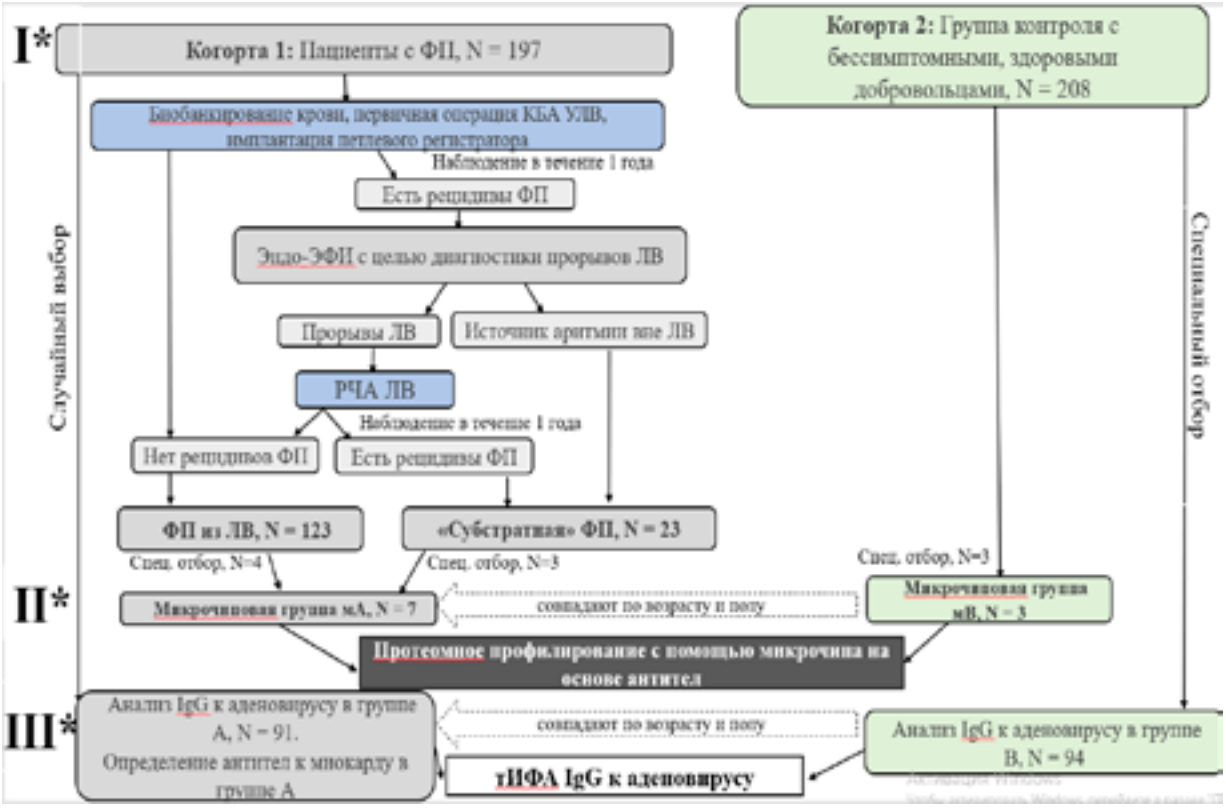


Рисунок 1. Дизайн исследования

I этап – отбор когорт 1 и 2, наблюдение за когортой 1.* Когорта 1 включала 197 пациентов с ФП, которых в зависимости от рецидивов ФП, результатов эндо-ЭФИ и повторных аблаций, распределяли в группу ФП из ЛВ или группу субстратной ФП (см. описание в тексте). *Когорта 2* включала 208 добровольцев.

II этап – протеомное профилирование с помощью микрочипов на основе антител с целью выбора белков-кандидатов для дальнейшей валидации.* Из когорты 1 с ФП из ЛВ и субстратной ФП выбирали субгруппу мА для проведения протеомного анализа с помощью микрочипов на основе антител. Из когорты 2 (добровольцы) выбирали субгруппу мВ. мА и мВ были выбраны по принципу «случай-контроль» и соответствовали друг другу по полу и возрасту.

III этап – валидация белков-кандидатов.* Выявленные белки - кандидаты на этапе II были проанализированы в больших группах А (с ФП из ЛВ и субстратная ФП) и В (добровольцы), выбранных по принципу «случай-контроль», с использованием альтернативного тИФА. Так же оценивался титр антител (IgG) к ядрам кардиомиоцитов, к кардиомиоцитам, к антигенам эндотелия и к гладкой мускулатуре.

Исследуемые группы

Настоящее исследование «случай-контроль» включало 4 группы: мА (случай) и мВ (контроль) для сравнительного протеомного профилирования с использованием микрочипов для выявления белков-кандидатов. Группы А (случай) и В (контроль) для валидации с помощью тИФА белков-кандидатов (IgG к AdV), полученных по результатам протеомного профилирования при сравнении субгруппы мА с субгруппой мВ [рис. 1].

Определение титра антител к ядрам кардиомиоцитов, а также титра антител к антигенам эндотелия, кардиомиоцитов, гладкой мускулатуры.

Методом ИФА определялись показатели антител. На срезы миокарда быка наносилась сыворотка пациента в разведении от 1:40 до 1:320, использовались антитела против IgG человека, меченные флюоресцеинизотиоцианатом (ФНИЦЭМ имени Н.Ф.Гамалеи). Методом люминисцентной микроскопии (микроскоп Leica DM4000B) оценивалось флюоресцентное свечение различных структур миокарда. Нормальным значением считалось отсутствие антител к ядрам кардиомиоцитов, а также титр антител к антигенам эндотелия, кардиомиоцитов, гладкой мускулатуры, волокон проводящей системы при использвании разведения сыворотки не более 1:40. Диагностически значимым считалось обнаружение антител к ядрам кардиомиоцитов в любом титре и повышение остальных антител ≥1:160.

Протеомный анализ с применением микрочипов на основе антител

Метод описан ранее [5]. Микрочипы Explorer содержали 656 антител, иммобилизованных на стеклянной подложке в двух копиях для каждого антитела (ASB600, Full Moon Biosystems, США; полный список антител доступен на сайте производителя по адресу fullmoonbio.com). Микрочипы сканировали с помощью лазерного сканера (InnoScan microarray Scanner 900, Innopsys, Франция) Белки идентифицировали согласно базам данных UniProtKB/Swiss-Prot. Количественную оценку содержания белка на микрочиповом имидже, представленную средней интенсивностью свечения пятна, выражали в количестве пикселей после вычета фона.

тИФА для определения IgG к AdV

Концентрации IgG к AdV в сыворотке измеряли в образцах с помощью набора тИФА для IgG к AdV человека (Fine Test, Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., Китай) на основе непрямого тИФА.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием SPSS (IBM). Непрерывные переменные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение, а категориальные переменные представлены в процентах. Сравнение таких параметров, как пол, возраст, ИМТ, ожирение и С-реактивный белок между когортами 1 и 2 проводилось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Связи между ФП, ожирением и статусом по IgG к AdV в группах А и В оценивали с помощью расчета ОШ с 95% ДИ. Значимость многомерной полиномиальной логистической регрессии в объединенных

группах A и B для различных переменных, включая ожирение, статус по IgG к AdV и ИМТ, оценивали на по критерию χ (Вальда) и критерию Фишера (с 95% ДИ). Сравнение групп антител к миокарду выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Полученные результаты

Характеристики групп

Когорта 1 с ФП включала 197 пациентов, проходивших лечение в НМИЦ ТПМ. У всех пациентов была диагностирована ФП. Средний возраст начала аритмии составил 53,24 ± 10,55 года, длительность анамнеза ФП — 4,0 ± 2,7 года. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были гипертоническая болезнь (ГБ) (75,63%) и ожирение (53,2%). Сахарный диабет (СД) 2 типа был диагностирован у 28 пациентов (14,21%). Период наблюдения завершен у 187 пациентов, 41 пациент выбыл из исследования в связи с несоблюдением контрольных визитов, отказом от повторной операции, выявленных онкологических заболеваний. Остальные 146 пациентов с ФП были классифицированы как ФП, ассоциированная с ЛВ (N=123) и субстратная ФП (N=23).

Когорта 2 включала 208 здоровых добровольцев, прошедших профилактическое консультирование в НМИЦ ТПМ. Общие демографические, антропометрические и биохимические характеристики этой когорты существенно не отличались от контрольных значений здоровых лиц. Эта когорта была описана ранее [6].

Результаты сравнительного протеомного профилирования с помощью микрочипов на основе антител в субгруппах мА и мВ

В субгруппу мА вошли 7 пациенток из 1-й когорты с ФП (с субстратной ФП (N = 3) и ФП, ассоциированной с ЛВ (N = 4). Соответствующая контрольная субгруппа мВ включала 3 здоровых женщин из когорты 2.

По результатам сравнительного протеомного анализа, проведенного между указанными группами, были выявлены белки-кандидаты, уровень которых значимо различался между группами сравнения. Всего на микрочипе Explorer было иммобилизовано 4 различных антитела к фрагментам AdV: AdV (без номера UniProt), AdV волокно (без номера UniProt), AdV типа 2 E1A (UniProt: P03254) и AdV типа 5 E1A (UniProt: P03255). В сумме уровень всех 4 AdV фрагментов достоверно различался между субгруппами мА и мВ. Уровень белка AdV волокна имел тенденцию к увеличению в субгруппе мА по сравнению с субгруппой мВ (среднее ± SD, интенсивность пикселей минус фон: 183 ± 43 против 155 ± 71 соответственно; P = 0,067). Была сформулирована гипотеза, что субгруппа мА была подвержена воздействию AdV-инфекции в большей степени, чем субгруппа мВ, поскольку белок AdV волокна может указывать на перенесённую AdV-инфекцию. Для проверки гипотезы были измерены IgG к AdV с помощью тИФА.

тИФА IgG к AdV

Большая группа А (N = 91) была выбрана из когорты 1 с ФП случайным образом, а группа В (N = 94) была выбрана из когорты 2 так, чтобы соответствовать группе А по возрасту и полу. В обеих группах измеряли антитела к AdV. Было обнаружено, что доля лиц положительных по антителам к AdV была более чем в 2 раза выше в группе А по сравнению с группой В; (ОШ) 2,06 (95% ДИ: 1,11–3,84; P = 0,02). Доля лиц в группе А с ожирением (ИМТ>30) была почти в 3 раза выше среди пациентов с ФП положительных по антителам к AdV, по сравнению с пациентами с ФП, отрицательными по антителам к AdV (ОШ = 2,7; 95% ДИ: 1,02–7,1; P = 0,04). В контрольной группе В подобных различий выявлено не было.

По результатам ROC-анализа в объединенных группах А и В (N = 180) была выявлена ассоциация между статусом по IgG к AdV, ИМТ, ожирением и ФП. Положительный статус по IgG к AdV был связан с ФП (P = 0,048) и ИМТ (P = 0,033), а ФП была тесно связана с ИМТ (P = 0,007). Поскольку ИМТ, ожирение и ФП были ассоциированы со статусом по IgG к AdV, эти параметры были включены в полиномиальную логистическую регрессию. Такие параметры как ГБ, СД 2 типа, ИБС, инсульт или ТИА не включали в модель, поскольку эти параметры не были связаны со статусом по IgG к AdV согласно данным одномерного ROC-анализа. Многомерный анализ с применением полиномиальной логистической регрессии в объединенных группах А и В использовался для оценки независимого вклада указанных ковариат в ассоциации с изучаемыми состояниями. Результаты показали, что положительный статус по IgG к AdV и ИМТ внесли независимый вклад в ассоциацию с ФП. Статус ожирения в тенденции (P = 0,074) был ассоциирован с положительным статусом по IgG к AdV. Независимой ассоциации между положительным статусом по IgG к AdV статусом ожирения выявлено не было.

Таким образом, была выявлена взаимосвязь между ФП и положительным статусом по IgG к AdV. ФП была независимо связана с ИМТ, что позволяет предположить, что AdV-инфекция - возможный этиологический фактор ФП.

Антитела к к ядрам кардиомиоцитов, а также титр антител к антигенам эндотелия, кардиомиоцитов, гладкой мускулатуры, IgG к AdV.

Титр антител к проводящей системе сердца (N=96) достоверно различался между группами пациентов с субстратной ФП (N=10) и вено-зависимой ФП (N=86) (P= 0,029). Остальные антитела: к ядрам кардиомиоцитов, к антигенам эндотелия, гладкой мускулатуре не различались между группами пациентов с субстратной ФП и вено-зависимой ФП. Так же оценивали взаимосвязь между титром антител к проводящей системе сердца и статусом к IgG к AdV, однако так же достоверной взаимосвязи выявлено не было между титром антител к проводящей системе сердца и статусом к IgG к AdV.

Обсуждение

В настоящее время нет сформированных предикторов эффективности катетерного лечения ФП на догоспитальном этапе при эпизодах неэффективности хирургического лечения у схожих пациентов по клинико-морфологических данным даже в руках у одного и того же хирурга. В связи с чем выполняется поиск маркеров, показывающих вероятную эффективность или неэффективность предстоящего катетерного лечения ФП.

Первичные результаты нашего исследования показывают взаимосвязь ФП и ожирения, что соответствует данным мировой литературы. Ожирение связано с рядом хронических заболеваний, включая кардиомиопатию [7,8]. В настоящее время хорошо известно, что ожирение связано с повышенным риском развития и тяжести ФП [9]. Риск развития ФП возрастает пропорционально увеличению ИМТ [10]. И наоборот снижение веса в пересчете на ИМТ на1 кг/м2 способствует снижению риска возникновения ФП на 7%, а при уже возникшей ФП снижает количество и тяжесть пароксизмов, в том числе уменьшает вероятность рецидивов ФП после катетерного лечения [11]. Связь между ожирением и ФП объясняется различными факторами сердечно-сосудистого риска, такими как СД и ГБ [12]. Тем не менее, результаты ряда исследований показывают, что связь ожирения и ФП сохранялась даже с поправкой на указанные сердечно-сосудистые заболевания [13]. В качестве возможной причины эпидемии ожирения была выдвинута гипотеза о влиянии AdV-инфекции. Данные настоящего исследования показали, что доля пациентов с ожирением была примерно в 3 раза выше среди лиц с положительным статусом по IgG к AdV по сравнению с долей лиц с отрицательным статусом по IgG к AdV. Этот вывод согласуется с результатами исследований «случай-контроль» и когортных исследований, которые продемонстрировали, что общая распространенность инфекции AdV-36 человека среди лиц с ожирением составила 32% в основной группе и 27% в контрольной группе [14]. Было показано, что инфицирование AdV-36 связано с инсулиннезависимым поглощением глюкозы за счет активации фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) [15]. Другой возможный механизм развития ожирения связан с развитием окислительного стресса, хотя влияние AdV в этом контексте пока до конца не изучено [8].

Обнаружение AdV волокна является признаком перенесенной вирусной инфекции. Перенесенная AdV-инфекция у пациентов с ФП была подтверждена при определении IgG к AdV с помощью тИФА. Доля лиц с положительным статусом по IgG к AdV у пациентов с ФП была в 2 раза выше, чем у добровольцев, что позволяет предположить связь AdV-инфекции с ФП. Эти данные согласуются с результатами исследований, где показана взаимосвязь AdV с опасными для жизни заболеваниями, например, с вирусным миокардитом, вызывающим внезапную сердечную смерть у 59% пациентов [16]. Одним из способов диагностики миокардита является определение титра антител к миокарду [17], поэтому в настоящей работе оценивали взаимосвязь между статусом по AdV и титром антител к ядрам кардиомиоцитов, к антигенам эндотелия, кардиомиоцитов, гладкой мускулатуры,

волокон проводящей системы сердца. Взаимосвязи между IgG к AdV и антителами к миокарду выявлено не было.

AdV-инфекция рассматривается как возможный этиологический фактор ФП, хотя молекулярные механизмы аритмогенеза, вызванного инфекцией, до конца неизвестны. Эти механизмы могут быть связаны с транскрипторными и посттрансляционными нарушениями, приводящими к разобщению межклеточных контактов и дисфункции ионных каналов как аритмогенного субстрата. Показано, что эти события способны оказывать негативное воздействие на организм прежде, чем будет активирована иммунная система с последующим развитием кардиомиопатии [18]. Эти факты указывают на то, что нарушение проведения электрического импульса могут возникать до развития воспалительной реакции.

Выводы

Также было показано, что Ad-инфекция - возможный этиологический фактор ФП и ФП, в свою очередь, связана с ожирением. Различий между группами пациентов с субстратной ФП и ФП из ЛВ по статусу к IgG к AdV не было выявлено, поэтому IgG к AdV не могут служить маркером для оценки эффективности катетерного вмешательства на дооперационном этапе. Так же не было выявлено взаимосвязи между титром IgG к миокарду и IgG к AdV.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Мареев Ю. В., Поляков Д.С., Виноградова Н.Г. и др. ЭПОХА: Эпидемиология фибрилляции предсердий в репрезентативной выборке Европейской части Российской Федерации. Кардиология. 2022;62(4):12-19. doi:10.18087/cardio.2022.4.n1997

2. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A, Le Métayer P, Clémenty J. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. N Engl J Med. 1998 Sep 3;339(10):659-66. doi: 10.1056/NEJM199809033391003. PMID: 9725923.

3. Wynn GJ, Todd DM, Webber M, Bonnett L, McShane J, Kirchhof P, et al. The European heart rhythm association symptom classification for atrial fibrillation: validation and improvement through a simple modification. *Europace.* (2014) 16 (7):965–72. doi: 10.1093/europace/eut395

4. Davtyan KV, Topchyan AH, Brutyan HA, Kalemberg EN, Kharlap MS, Simonyan GY, et al. The predictive role of early recurrences of atrial arrhythmias after pulmonary vein cryoballoon ablation. Is blanking period an outdated concept? Insights from 12-month continuous cardiac monitoring. *BMC Cardiovasc Disord*.

5. Klimushina MV, Gumanova NG, Metelskaya VA. Direct labeling of serum proteins by fluorescent dye for antibody microarray. *Biochem Biophys Res Commun.* (2017) 486(3):824–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.136

6. Gorshkov AY, Klimushina MV, Boytsov SA, Kots AY, Gumanova NG. Increase in perfused boundary region of endothelial glycocalyx is associated with higher prevalence of ischemic heart disease and lesions of microcirculation and vascular wall. *Microcirculation.* (2018) 25(4):e12454. doi: 10.1111/micc.12454

7. Waye MM. New insights into how adenovirus might lead to obesity: an oxidative stress theory. *Free Radic Res.* (2011) 45(8):880–7. doi: 10.3109/10715762.2011.571684 8.

8. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. *Eur Heart J.* (2008) 29(17):2073–82. doi: 10.1093/eurheartj/ehn296

9. Wang TJ, Parise H, Levy D, et al. Obesity and the Risk of New-Onset Atrial Fibrillation. *JAMA*. 2004;292(20):2471–2477. doi:10.1001/jama.292.20.2471

10. Tedrow UB, Conen D, Ridker PM, Cook NR, Koplan BA, Manson JE, Buring JE, Albert CM. The long- and short-term impact of elevated body mass index on the risk of new atrial fibrillation the WHS (women's health study). J Am Coll Cardiol. 2010 May 25;55(21):2319-27. doi:

11. Berkovitch A, Kivity S, Klempfner R, Segev S, Milwidsky A, Erez A, et al. Body mass index and the risk of new-onset atrial fibrillation in middle-aged adults. *Am Heart J.* (2016) 173:41–8. doi: 10.1016/j.ahj.2015.11.016

12. Lee H, Choi EK, Lee SH, Han KD, Rhee TM, Park CS, et al. Atrial fibrillation risk in metabolically healthy obesity: a nationwide population-based study. *Int J Cardiol.* (2017) 240:221–7. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.03.103

13. Tedrow UB, Conen D, Ridker PM, Cook NR, Koplan BA, Manson JE, Buring JE, Albert CM. The long- and short-term impact of elevated body mass index on the risk of new atrial fibrillation the WHS (women's health study). *J Am Coll Cardiol*. 2010 May 25;55(21):2319-27. doi: 0.1016/j.jacc.2010.02.029.

14. Marjani A, Khatami A, Saadati H, Asghari M, Razizadeh MH, Abbasi A, et al. Association of adenovirus 36 infection and obesity; an updated meta-analysis of community-based studies. *Rev Med Virol*. (2022) 32(1):e2255. doi: 10.1002/rmv.2255

15. Ponterio E, Gnessi L. Adenovirus 36 and obesity: an overview. *Viruses.* (2015) 7 (7):3719–40. doi: 10.3390/v7072787

16. Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. Adenoviruses. Principles of virology. *2nd ed. Washington, DC: ASM Press* (2004). p. 804–5, 846.

17. Blagova, O. V. Clinical, laboratory and instrumental criteria for myocarditis, established in comparison with myocardial biopsy: A non-invasive diagnostic algorithm / O. V. Blagova [et al.] // Terapevticheskii arkhiv. – 2017. – № 9 (89). – P. 30–40.

18. Calhoun PJ, Phan AV, Taylor JD, James CC, Padget RL, Zeitz MJ, et al. Adenovirus targets transcriptional and posttranslational mechanisms to limit gap junction function. *FASEB J.* (2020) 34(7):9694–712. doi: 10.1096/fj.202000667R

NTproBNP В РОЛИ ПРЕДИКТОРА РЕЦИДИВА ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ С ЛОКАЛИЗАЦИЕЙ СУБСТРАТА ВНЕ ЛЕГОЧНЫХ ВЕН ПОСЛЕ КРИОБАЛЛОННОЙ ИЗОЛЯЦИИ УСТЬЕВ ЛЕГОЧНЫХ ВЕН

Е.Н. Калемберг[1], К.В. Давтян[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г. Москва

Резюме

Цель работы: определить роль NTproBNP в качестве предиктора субстратной, «не-венозависимой» у пациентов с рецидивами ФП после изоляции ЛВ.

Введение: Выявление процессов, ведущих к возникновению субстрата для фибрилляции предсердий вне муфт устьев ЛВ («не-венозависимой» ФП), является важной научно-практической задачей, так как это позволит более точно прогнозировать потенциальный эффект от изоляции ЛВ на дооперационном этапе и оптимизировать отбор пациентов.

Материалы и методы: 100 пациентам проведена первичная криобаллонная изоляция устьев легочный вен с одномоментной имплантацией петлевых регистраторов ЭКГ для объективного отслеживания рецидивов ФП и взята кровь (до вмешательства) для анализа NTproBNP. Клиническое наблюдение длилось в течение года (визиты в 3,6, 12 мес), пациенты с рецидивами направлены на повторное ЭФИ и сегментарную РЧА в случае выявления прорывов легочных вен. После повторного вмешательства срок наблюдения продолжался на год с прежним графиком визитов.

Результаты*:* Частота рецидивирования ФП в течение годового наблюдения с учетом выявления бессимптомных рецидивов с помощью имплантируемого подкожного петлевого регистрирующего устройства составила 34,3% после первичной КБА УЛВ и 10,7% после повторной изоляции ЛВ без дополнительных воздействий. Достоверно более выраженное повышение уровня NTproBNP отмечено у пациентов с «не-венозависимой» ФП в сравнении с «венозависимой».

Заключение: NTproBNP достоверно выше у пациентов с не-венозависимой ФП и потенциально может служить предиктором рецидивирования ФП после изоляции устьев ЛВ.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий; предикторы рецидивирования фибрилляции предсердий; NTproBNP; петлевые регистраторы электрокардиограммы; криобаллонная аблация.

Список сокращений: ЛВ – легочные вены, ЛП – левое предсердие, МПП – межпредсердная перегородка, МЖП – межжелудочковая перегородка, УЛВ – устья легочных вен, ФП – фибрилляция предсердий, ЭКГ – электрокардиограмма, NTproBNP – N-терминальный пропептид натрийуретического гормона,

Введение

Фибрилляция предсердий (ФП) - наиболее часто встречающийся вид нарушений ритма сердца в популяции, с распространенностью в Европейской части РФ 2,04 [1], сопряженный с высоким социально-экономическим бременем.

Ассоциация ФП с тромбоэмболическими осложнениями, развитием сердечной недостаточности, а также со сниженным качеством жизни пациентов[2] заставляет исследователей по всему миру многие десятилетия заниматься изучением патогенеза и разработкой подходов к ее лечению.

В 1998 году M.Haissaguerre и соавт. описали роль эктопической активности муфт легочных вен (ЛВ) в патогенезе ФП [3]. Это открытие лежит в основе широко распространенных катетерных методик лечения ФП. Тем не менее, эта теория не объясняет рецидивирования ФП после достоверно успешной изоляции муфт ЛВ. Разные результаты эффективности аблации у клинически схожих больных делают затруднительным корректный отбор потенциальных ответчиков на катетерное лечение, так как отсутствует всестороннее понимание, что именно делает процедуру эффективной или наоборот.

В связи с этим продолжается поиск и изучение новых теорий, объясняющих наличие аритмогенного субстрата не только в области устьев ЛВ, но и в миокарде левого предсердия (ЛП).

Материалы и методы

Данное исследование одноцентровое, проспективное, выполнено на базе «Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины». Набор и наблюдение пациентов осуществлялись в 2017-2021 гг. с последовательным включением пациентов (начало включения пациентов – 2017 год, окончание – 2019 год.)

Протокол исследования был разработан в соответствии с критериями Хельсинской декларации и был одобрен Независимым этическим комитетом центра.

Дизайн исследования

Дизайн исследования схематично изображен на рисунке 1. Пациенты для участия в исследовании выбирались согласно критериям включения (перечислены далее) среди тех, кто поступал в НМИЦ ТПМ для проведения катетерного лечения ФП. Всем включенным пациентам во время госпитализации в день операции или накануне проводился забор венозной крови с целью дальнейшего определения в ней уровня N-терминального пропептида натрийуретического гормона (NTproBNP), а также имплантация петлевого регистратора ЭКГ. После выписки из стационара за пациентами продолжалось наблюдение в течение 1 года после оперативного вмешательства с графиком визитов 3, 6, 12 месяцев. Во время визитов проводилось считывание информации с петлевого регистратора ЭКГ. По результатам годового наблюдения пациенты разделились на пациентов с рецидивами ФП после первичной операции (в том числе важным представлялось выявление бессимптомных рецидивом посредством анализа данных петлевого регистратора ЭКГ) и пациентов без рецидивов ФП. Группе пациентов с рецидивами выполнялось повторное эндокардиальное электрофизиологическое исследование для определения причины рецидивирования ФП. По результатам ЭФИ происходило либо выявление участков несостоятельности первичной изоляции устьев ЛВ, и в дальнейшим данной группе пациентов выполнялась сегментарная радиочастотная

аблация в данных местах, либо верификации субстрата аритмии за пределами устьев ЛВ (верификация не-венозависимой ФП). Пациенты, которым была выполнена повторная изоляция ЛВ, вновь проходили годовое наблюдение с прежним графиком визитов для верификации рецидивирования ФП после второй операции. Наблюдение длилось до 1 года, либо до первого рецидива ФП вне слепого периода. Пациенты, у которых на повторной процедуре верифицировалась изоляция ЛВ достигали своей конечной точки. По результатам общего наблюдения пациенты разделились на 2 группы: группа I - без рецидивирования ФП после одной или двух операций катетерной изоляции ЛВ и группа II - пациенты с рецидивированием ФП, несмотря на достигнутую изоляцию легочных вен в результате 1 или 2 операций.

Далее для каждого пациента выполнялся анализ уровня NTproBNP Полученные данные были подвергнуты статистическому анализу.

Рисунок 1. Схематическое изображение дизайна исследования

Критерии включения и исключения пациентов:

Критерии включения соответствовали стандартным показаниям к катетерной аблации ФП и были следующими: мужской и женский пол, возраст старше 18 лет, пароксизмальная или персистирующая форма ФП, симптомность ФП по шкале EHRA 2b-4. Все пациенты включались после подписания информированного согласия на участие в исследовании.

Не включались пациенты с некомпенсированной сопутствующей патологией (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, нестабильная ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, системные заболевая в фазе обострения и т.д.), а также имеющие грубую структурную патологию сердца по эхокардиографии (ЭХОКГ): ЛП более 50 мм, тромбоз камер сердца, митральную регургитацию 3 степени и выше, фракцию выброса левого желудочка ниже 40%, гипертрофию более 14 мм.

Материалы исследования:

Выборка пациентов для участия в исследовании составила 100 человек (58 мужчин и 42 женщины) с пароксизмальной (n=89) и персистирующей формой (n=11) ФП и средним возрастом 58,2±9,4 лет. После первичной операции 15 человек выбыло из исследования по

причине отказа от повторного вмешательства и 1 человек выбыл по причине нагноения ложа петлевого регистратора и его эксплантации.

Характеристика клинических данных включенных пациентов представлена в таблице 1.

Параметр	Значение
Возраст, лет M±SD	58,2±9,4
Возраст манифестации аритмии, лет M±SD	53,2±10,2
Длительность анамнеза фибрилляции предсердий , лет Me (ИКР)	4,5 (2-7)
Количество баллов по CHA_2DS_2VASc, Me (ИКР)	2 (1-3)
Количество баллов по HASBLED, Me (ИКР)	1(0- 2)
Индекс массы тела, Me (ИКР)	29,5 (27,5-32,2)
Переднезадний размер левого предсердия (мм), M±SD	41,20±3,73
Фракция выброса ЛЖ (%),Me (ИКР)	63 (60-66)
Конечный диастолический размер ЛЖ (мм), Me (ИКР)	51(48-55)
Гипертрофия миокарда ЛЖ, n (%)	2 (2)
Женский пол, n (%)	42 (42)
Форма фибрилляции предсердий, пароксизмальная n (%)	89 (89)
Симптомность по EHRA (%) I класс IIa класс IIb класс III класс	 2 11 43 44
Гипертоническая болезнь, n (%)	71 (71)
Контроль целевого уровня артериального давления, n (%)	91 (91)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	2 (2)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	1 (%)
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, n (%)	2 (2%)
Транзиторная ишемическая атака в анамнезе, n (%)	5 (%)
Системные заболевания, n (%)	5 (5)
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	4 (4)
Нарушение толерантности к глюкозе, n (%)	4 (4)

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики

Статистический анализ

Статистический анализ и визуализация полученных данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

Описательные статистики представлены в виде наблюдаемого числа наблюдений (относительная частота) для качественных переменных и среднего (стандартное отклонение) и медианы (1-ый и 3-ий квартили) – симметричных и асимметричных выборочных распределений количественных переменных соответственно. Асимметрия выборочного распределения оценивалась с использованием коэффициента асимметрии, в качестве порогового значения использовалось абсолютное значение коэффициента равное 1,96.

Для сравнения групп в отношении качественных переменных использовался точный тест Фишера, в отношении количественных переменных – тест Манна-Уитни, различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Оценка ассоциации бинарных и количественных переменных с развитием рецидива проводилась с использованием логистических регрессионных моделей и моделей

пропорциональных рисков Кокса, в качестве мер эффекта использовались отношение шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом (95% ДИ).

Результаты исследования

Мы сопоставили группы пациентов с достигнутой изоляций устье легочных вен, не имеющих рецидивы ФП (группа I) и имеющих рецидивы (группа II), по клинико-демографическим данным, характеристикам ФП, сопутствующей патологии, лабораторным и гистологическим изменениям.

Общая характеристика выборки и клинико-анамнестических данных

При сравнительном анализе демографических и анамнестических показателей (таблица 2) была выявлена тенденция к большей длительности анамнеза ФП у пациентов с рецидивами после изоляции ЛВ (рисунок 2).

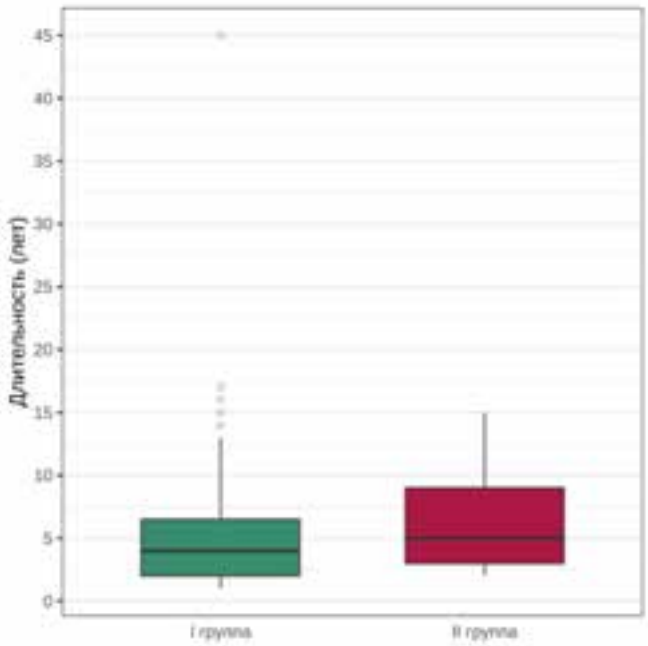


Рисунок 2. Длительность анамнеза ФП в группах пациентов

Статистически значимых отличий в отношении возраста, гендерного состава, индекса массы тела, сопутствующих заболеваний и возраста манифестации аритмии выявлено не было.

Во II группе пациентов статистически значимо чаще наблюдалось рецидивирование в слепом периоде после операции (7/9 (77,8%) против 14/75 (18,7%), p = 0,007) (рисунок 3).

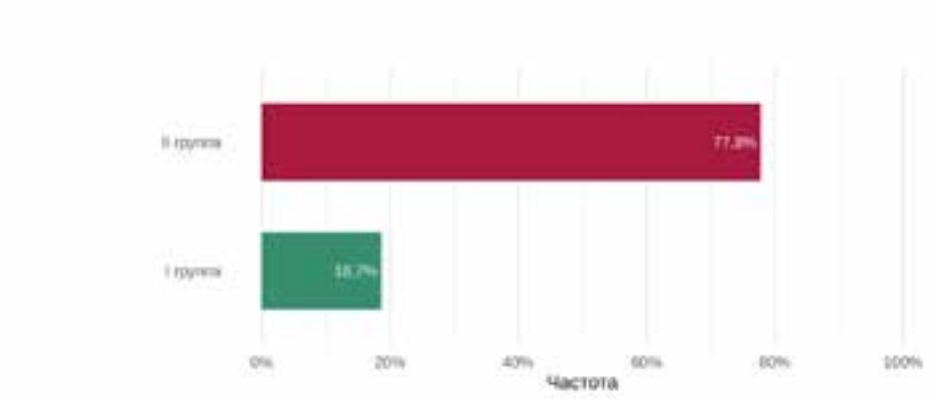


Рисунок 3. Частота рецидивирования в слепом периоде в группах пациентов

Анализ уровня NTproBNP в сыворотке крови:

Нами была выявлена статистически значимо более высокая концентрация NT-proBNP у пациентов I группы по сравнению со II группой (рисунок 4).

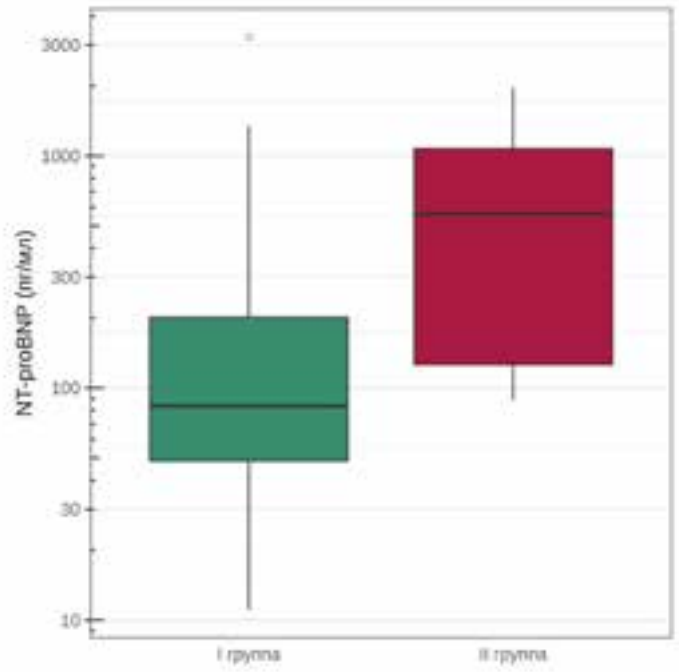


Рисунок 4. Концентрация NTproBNP в группах пациентов

Обсуждение результатов

Наша работа ставила перед собой цель изучить NTproBNP в качестве потенциального предиктора рецидивирования ФП после успешной катетерной изоляции ЛВ.

В настоящее время отчетливо не сформировано «портрета» потенциального ответчика на изоляцию устьев ЛВ. Пациенты со стандартными на сегодняшний день показаниями к вмешательству даже в рамках одного и того же центра имеют разную эффективность

процедуры. Такая ситуация требует изучения дополнительных звеньев патогенеза ФП и верификации предикторов эффективности (или, наоборот, неэффективности) аблации ЛВ.

Более точное понимание патофизиологии ФП, возможно, позволит улучшить отбор пациентов для катетерного лечения.

Лабораторные предикторы рецидивирования ФП, косвенно или прямо связанные с ремоделированием предсердного миокарда, также многие годы являются предметом внимания исследователей. Нами выявлено, что увеличение концентрации NT-proBNP в 2 раза было ассоциировано с увеличением шансов рецидива ФВ после изоляции ЛВ в среднем в 1,87 раз. В литературе имеются работы, которые содержат аналогичные результаты. Так, риск выявления бессимптомной фибрилляторной активности достоверно выше у пациентов с исходно повышенным уровнем NTproBNP [4].

Заключение

Повышение уровня NT-proBNP у пациентов до аблации предсказывает потенциально более низкую эффективность вмешательства и наличие у пациента субстрата для ФП вне легочных вен.

Требуются новые крупные работы для изучения возможности использования NTproBNP для определения тактики лечения или информирования пациентов о вероятности эффективности аблации ФП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mareev Yu.V., Polyakov DS., Vinogradova NG., Fomin IV., Mareev VYu., Belenkov Yu.N. et al. Epidemiology of atrial fibrillation in a representative sample of the European part of the Russian Federation. Analysis of EPOCH-CHF study. Kardiologiia. 2022;62(4):12–19. [Russian: Мареев ЮВ., Поляков Д.С., Виноградова Н.Г., Фомин И.В., Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н. и др. ЭПОХА: Эпидемиология фибрилляции предсердий в репрезентативной выборке Европейской части Российской Федерации. Кардиология. 2022;62(4):12–19] doi.org/10.18087/cardio.2022.4.n1997

2. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, et al. Spontaneous Initiation of Atrial Fibrillation by Ec- topic Beats Originating in the Pulmonary Veins. N Engl J Med. 1998; 339(10):659–66. doi:10.1056/NEJM199809033391003

3. Nanthakumar K., Lau Y.R., Plumb V.J., et al. Electrophysiological findings in adolescents with atrial fibrillation who have structurally normal hearts. Circulation. 2004;110:117–123. doi:10.1161/01.CIR.0000134280.40573.D8;

4. Chua W, Purmah Y, Cardoso V et al. Data-driven discovery and validation of circulating blood-based biomarkers associated with prevalent atrial fibrillation. Eur Heart J. 2019;21;40(16):1268-76. doi:10.1093/eurheartj/ehy815

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ СТАНДАРТНОЙ ДИЕТОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ НОСИТЕЛЕЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *TCF7L2*, СТРАДАЮЩИХ СД 2 ТИПА

О.В. Кондратьева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, г. Москва, Российская Федерация

Основное влияние диетотерапии при сахарном диабете (СД) 2 типа направлено как на улучшение или нормализацию гликемического контроля, так и преодоления инсулинорезистентности путем снижения содержания жировой массы тела. Одним из важнейших генетических предикторов развития СД 2 типа является наличие ОНП гена *TCF7L2* [1, 2, 3, 4,5,6]. Кроме непосредственного влияния на функцию β-клеток, существуют данные о влиянии гена *TCF7L2* на состав тела и жизнедеятельность адипоцитов [7,8,9]. Также выявлена сильная связь развития метаболического синдрома с генотипом TCF7L2, опосредованная уровнем потребления насыщенных жирных кислот. [10]. Кроме этого N. Roswall и соавт. показали, что носители Т аллели ОНП rs7903146 и rs12255372 гена *TCF7L2* (гаплотип ТТ и GT), имели лучшие профили антропометрических показателей (масса тела, ИМТ, окружность живота) при высокой приверженности средиземноморской диеты, при сравнении с носителями обычного гаплотипа GC (G аллель rs12255372 и С аллель rs7903146) [11]. Таким образом, существует предположение, что подбор и модификация диеты пациентов носителей Т аллеля гена *TCF7L2* может привести к лучшему контролю уровня глюкозы в крови и массы тела пациента.

Целью нашего исследования стала оценка влияния полиморфизмов гена *TCF7L2* на результаты диетотерапии среди пациентов, получающих комплексное лечение СД 2 типа.

Материалы и методы

В исследование было включено 148 пациентов (113 женщин и 35 мужчин, средний возраст – 58±9 лет). Включенные в исследование пациенты имели диагностированный ранее СД 2 типа и сопутствующее ожирение. Средняя длительность заболевания СД составила 7,9±6,1 лет. У 96 пациентов выявлены клинически выраженные микроангиопатии, у 58 – ишемическая болезнь сердца, у 80 – артериальная гипертония. Уровень систолического артериального давления (АД) в среднем по группе составил 130,9±11,8 мм рт.ст., диастолического АД – 82,5±5,0 мм рт.ст.

Пациенты получали один из 4 вариантов сахароснижающей терапии (монотерапия метформином; метформин и аналог сульфанилмочевины; метформин и агонисты ГПП1/ингибиторы ДПП-4; метформин, аналог сульфанилмочевины, агонисты ГПП1/ингибиторы ДПП-4 и ингибитор SGLT2) и один из трех вариантов стандартной диеты: низкокалорийную диеты (НКД), вариант диеты с повышенным количеством белка (ВБДс), вариант диеты с пониженным количеством белка (НБДс).

Клиническая характеристика пациентов, включённых в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов, включённых в исследование

Показатель	НКД		ВБД		НБД-с	
	генотип СС	Т-аллель	генотип СС	Т-аллель	генотип СС	Т-аллель
Возраст, лет	57,0±8,1	57,8±10,6	56,5±9,2	60,0±7,1	56,5±9,2	60,0±7,1
Длительность СД, лет	5,6±4,7	8,1±5,8	8,2±7,0	7,2±5,5	8,2±7,0	7,2±5,5
ИМТ, кг/м2	44,3±7,5	42,9±8,7	48,3±9,3	41,7±11,5	48,3±9,3	41,7±11,5
Окружность талии, см	118±13,8	113,8±14,1	120±14,5	112±14,9,1	120±14,5	112±14,9,1
Энерготраты покоя, ккал/сут	1806±282	1699±358	1966±341	1847±425	1966±341	1847±425
Глюкоза плазмы, ммоль/л	7,2±2,0	6,8±1,9	6,6±1,1	7,1±2,6	6,6±1,1	7,1±2,6

У всех больных проводилась оценка антропометрических показателей и показателей состава тела, исследовались биохимические параметры в сыворотке крови, оценивались показатели энергообмена покоя.

Антропометрические измерения включали в себя определение у наблюдаемых пациентов роста, массы тела, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ, ИМТ как отношение массы тела в килограммах к росту в метрах в квадрате. Показатели компонентного состава тела (содержание жировой и мышечной массы) определялись с помощью биоимпедансного анализатора «Inbody 720» фирмы Biospace Technology (Корея).

Исследование энерготрат покоя проводилось методом непрямой калориметрии с помощью стационарного метаболографа «QuarkRMR» (фирма COSMED, Италия) с авторским программным обеспечением «Cosmed RMR» и регистрацией концентрации потребляемого O_2, выдыхаемого CO_2, дыхательного коэффициента.

Проведен анализ носительства полиморфизмов rs7903146 и rs12255372 гена *TCF7L2*. Молекулярно-генетические исследования проведены в лаборатории демографии и эпидемиологии питания (зав. – к.т.н. Смирнова Е.А.) ФГБУН «ФИЦ питания и

биотехнологии». Амплификацию полиморфных участков исследуемых генов проводили с применением аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени и использованием TaqMan-зондов и использованием реагентов ("Синтол", Россия).

Методика диетотерапии

Вариант стандартной диеты с пониженной калорийностью (НКД): белки — 70–80 г, в т. ч. животные 40 г; жиры общие – 60-70 г, в т. ч. растительные 25 г; углеводы общие – 130-185 г, в т.ч пищевые волокна – 30-40 г. Энергетическая ценность 1630 ккал.

Вариант диеты с повышенным содержанием белка (ВБД-с) имел следующий химический состав и энергетическую ценность: белки – 104,6 г, в т. ч. животные 45–50 г; жиры общие – 85,0 г; углеводы общие – 248,9 г, в т.ч. пищевые волокна – 25-30 г. Энергетическая ценность 2179 ккал.

Вариант стандартной диеты с пониженным количеством белка: белки – 62,7 г; жиры общие – 61,9 г, в том числе растительные – 20-30 г; углеводы общие – 143 г. Энергетическая ценность 1381 ккал

Статистические методы

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы SPSS Statistics 21.0 (IBM Statistics, США). Результаты представлены в виде средних величин и стандартного отклонения средней величины (M±ð). Достоверность различий выборок оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни и Вилкоксона, в случае нормального распределения показателей достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считались значимыми при $p<0,05$.

Результаты

Целевых значений гликемии достигли 86% пациентов, получающих НКД, при этом среднее относительное снижение концентрации глюкозы составило 14,7%. В группе пациентов, получающих ВБД-с, в среднем снижение концентрации глюкозы было несколько меньше и составило 11,5%, хотя разница не была достоверна ($p=0,17$), целевого уровня гликемии удалось достичь у 82% пациентов. На фоне применения ВБД-с также имелась тенденция меньшему относительному снижению гликемии как у носителей CC генотипа, так и T аллеля. Это может быть объяснено более высоким содержанием углеводов по сравнению с НКД.

Показатели постпрандиальной гликемии (ППГК) также значимо улучшались на фоне проводимой диетотерапии, на момент поступления ППГК составляла 7,5±2,1 ммоль/л

и 7,4±2,2 ммоль/л, соответственно. На момент окончания госпитализации ППГК снизился до 6,5±1,3 и 6,6±1,4 ммоль/л у пациентов получающих НКД и ВБД-с, соответственно. Снижение массы тела у пациентов на НКД и ВБД-с было статистически значимое. При этом относительное снижение массы тела было более выражено у пациентов, получавших НКД, и составляло 3,6±1,2% (p=0,05). Потеря массы тела на ВБД-с среди носителей СС генотипа была менее выражена, чем у носителей Т аллеля и составила 2,9±1,7%.

На фоне применения ВБД-с отмечено снижение содержания жировой массы на 2,6±2,3%, при этом снижение на фоне НКД составило 5,2±3,5% (p=0,071). Снижение содержания жировой массы у носителей Т аллеля было сопоставимо с носителями СС генотипа и составило 2,3±2,3% против 2,7±2,4% на ВБД-с. По сравнению с НКД, носители СС генотипа на ВБД-с в меньшей степени снижали содержание жировой и мышечной массы (таблицу 2). Носители Т аллеля значительно больше теряли мышечную массу при сравнении с носителями СС генотипа на ВБД-с.

Таблица 2. Изменение состава тела в ответ на диетотерапию в группах (M±ð).

	НКД (все типы лечения)		ВБД-с (все типы лечения)		p			НБД-с(все типы лечения)		P		
	генотип СС	Т-аллель	генотип СС	Т-аллель	С-С	Т-Т	С-Т	генотип СС	Т-аллель	С-С	Т-Т	С-Т
%. Сниж. Массы	3,6±1,1	3,6±1,4	2,9±1,7	3,4±1,1	0,033	0,762	0,515	3,7±2,3	4,9±1,8	0,949	0,050	0,391
% сниж ИМТ	3,5±1,2	3,5±1,4	3,5±1,8	3,6±2,7	0,109	0,867	0,638	3,8±2,4	5,0±2,0	0,116	0,098	0,034
%сниж Мыш тк, кг	3,2±2,8	3,2±2,0	**0,7±2,9**	3,2±1,3	0,008	0,998	0,029	1,9±3,4	1,1±1,5	0,303	0,571	0,656
%сниж. жир м	4,6±2,4	4,5±3,4	2,7±2,4	2,3±2,3	0,038	0,178	0,733	5,8±2,9	9,0±3,1	0,361	0,571	0,158
% сниж. ПЖТ	1,2±2,7	2,5±4,6	1,7±2,5	-0,4±1,5	0,555	0,179	0,045	1,5±1,4	3,3±2,3	0,713	0,785	0,265
% сниж. ВисцЖ	2,5±2,8	2,5±3,4	2,7±3,8	0,7±2,7	0,908	0,296	0,329	0,1±2,6	0,8±3,4	0,241	0,303	0,798

11 пациентов СД 2 типа получали низкобелковую диету с исключением простых углеводов (НБД-с). Средняя длительность СД в группе составляла 16,1±7,7 лет, что значительно превосходило этот показатель для пациентов, получавших НКД (7,9±5,4 лет) из 4 группы пациентов. Изначальный показатель ИМТ значимо не отличался между пациентами, находившимися на НКД и НБД-с, и составлял 43,6±7,6 и 39,1±6,7 г/м2 (p=0,101).

Ответ на лечение в группе НБД-с был достигнут в 77,8% случаев (n=7), что значимо не отличалось от группы пациентов, получающих НКД. Среднее снижение уровня глюкозы в плазме крови составило 13,5±9,9% у пациентов, получающих НБД-с и 17,3±15,2 у пациентов, получающих НКД с таким же типом терапии. Уровень ППГК на момент выписки также значимо не отличался в группах и составил 7±1 ммоль/л. При оценке вышеперечисленных показателей с разделением пациентов по генотипам значимых различий между носителями CC/GG генотипа и T аллеля ОНП rs7903146 и rs1225537 гена *TCF7L2* выявлено не было.

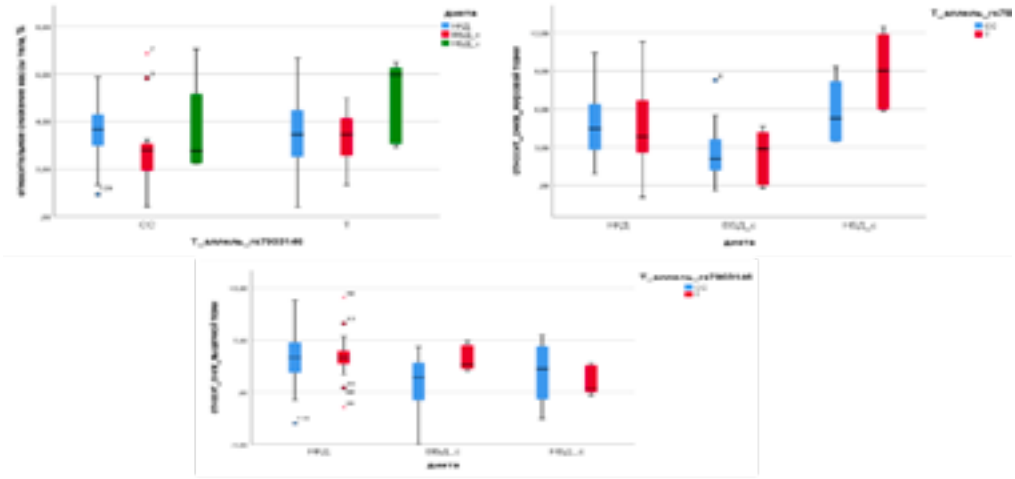
Снижение массы тела у пациентов, получавших НБД-с составило 4,4±2,0%, среди пациентов, получающих НКД – 3,5±1,3%. При оценке относительного снижения массы тела пациентов носителей T аллеля отмечали более выраженное снижение массы тела на фоне НБД-с по сравнению с НКД (4,9±1,8%, p=0,05) (см таблицу 2). При оценке состава тела у наблюдаемых пациентов отмечено, что жировая масса у больных, получающих НБД-с и НКД, изначально не отличалась. На фоне НБД-с отмечено снижение содержания жировой массы на 7,6±3,3%, при этом снижение на НКД составила 4,9±3,5% (p=0,037). Снижение жировой массы у носителей T аллеля достигло 9,0±3,1%, у носителей CC генотипа – 5,8±2,9% (p=0,158)

Выводы

Применение всех трех вариантов диет показало эффективность в снижении массы тела и содержании жировой массы тела у пациентов СД 2 типа, включенных в исследование. Вариант НКД способствовал наибольшему снижению массы тела в сравнении с ВБД-с и НБД-с, однако у носителей T аллеля ОНП rs7903146 и rs1225537 гена *TCF7L2* отмечено более выраженное снижение массы тела на НБД-с в сравнении с другими вариантами диеты. Применение НКД обуславливало наибольшую потерю жировой массы тела, при сравнении с высокобелковым вариантом диеты, однако потеря мышечной массы тела также была значительная, что является негативным фактором. Применение ВБД-с у носителей CC

генотипа показало сравнительно меньшую потерю мышечной массы, чем применение НКД (рис).

Рис. Изменение массы тела, содержания жировой и мышечной массы на фоне различных вариантов стандартной диетотерапии у пациентов СД 2 типа носителей полиморфизмов гена *TCF7L2.*



Потеря мышечной массы у носителей Т аллеля значимо не отличалась при применении различных вариантов диетотерапии. Данную тенденцию изменения состава тела можно объяснить различиями в исходном уровне основного обмена между носителями СС генотипа и Т аллеля, при этом последние имели более низкий уровень основного обмена в сравнении с носителями СС генотипа. Поэтому изокалорийные рационы способствуют более физиологическому снижению массы тела: максимальное сохранение мышечной массы и значительное снижение жировой массы, являющейся основным патогенетическим звеном в развитии инсулинорезистентности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alterations in TCF7L2 expression define its role as a key regulator of glucose metabolism. / D Savic [и др.] // Genome Res.. – 2011. – № 21. – С. 1417–1425
2. Diabetes risk gene and Wnt effector TCF7L2/TCF4 controls hepatic response to perinatal and adult metabolic demand / SF Boj [и др.] // Cell. – 2012. – № 151. – С. 1595–1607
3. Emergence of TCF7L2 as a most promising gene in predisposition of diabetes type II / V Gupta [и др.] // Cell. – 2008. – № 8. – С. 199–215
4. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. / SF Grant [и др.] // Nat. Genet.. – 2006. – № 38. – С. 320-323
5. Association of transcription factor 7- like 2 (TCF7L2) variants with Type 2 diabetes in a Finnish sample. / LJ Scott [и др.] // Diabetes. – 2006. – № 55. – С. 2649–2653
6. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCFL2) gene and the risk of type 2 diabetes in large cohorts of US women and men / C Zhang [и др.] // Diabetes. – 2006. – № 55. – С. 2645–2648
7. Interaction analysis of gene variants of TCF7L2 and body mass index and waist circumference on type 2 diabetes / Li Linlin [и др.] // Clinical Nutrition. – 2020. – Т. 39, № 1. – С. 192-197
8. Targeted deletion of TCF7L2 in adipocytes promotes adipocyte hypertrophy and impaired glucose metabolism / G Geoghegan [и др.] // Mol Metab. – 2019. – № 24. – С. 44-63
9. The Diabetes Gene and Wnt Pathway Effector TCF7L2 Regulates Adipocyte Development and Function / G Xi Chen [и др.] // Diabetes. – 2018. – Т. 4, № 67. – С. 554-568
10. Mediterranean diet reduces the adverse effect of the TCF7L2-rs7903146 polymorphism on cardiovascular risk factors and stroke incidence: a randomized controlled trial in a high-cardiovascular-risk population / D Corella [и др.] // Diabetes Care. – 2013. – Т. 11, № 36. – С. 3803-11
11. Association between Mediterranean and Nordic diet scores and changes in weight and waist circumference: influence of FTO and TCF7L2 loci / N Roswall [и др.] // Am J Clin Nutr. – 2014. – Т. 4, № 100. – С. 1188-97

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗВЕНЬЕВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ У МУЖЧИН С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ НИЗКОГО И УМЕРЕННОГО СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА

А.И. Королев, А.А. Федорович, А.Ю. Горшков, О.М. Драпкина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель: провести комплексное исследование различных звеньев микроциркуляторного русла (МЦР) кожи у мужчин с впервые выявленной артериальной гипертензией (АГ) низкого и умеренного сердечно-сосудистого риска (ССР).

Материалы и методы: 118 «условно» здоровым мужчинам трудоспособного возраста (30-60 лет) проведено: видеокапилляроскопия (ВКС), лазерная допплеровская флоуметрия (ЛДФ), фотоплетизмография (ФПГ), ультразвуковое исследование сердца и магистральных артерий, клинический и биохимический анализы крови, суточное мониторирование АД (СМАД). По результатам СМАД сформировано две группы: группа контроля (ГК) – 59 мужчин с нормальным уровнем АД, группа АГ – 59 мужчин с впервые выявленной АГ.

Результаты: по данным ВКС и ЛДФ изменений состояния капиллярного, пре- и посткапиллярного звеньев МЦР кожи у мужчин с АГ низкого и умеренного ССР не выявлено. По данным ФПГ мужчины с АГ относительно ГК имели большие значения нормированного индекса аугментации (Alp75) – 3,8% и -5,25% ($p<0,005$), индекса жесткости (SI) – 7,6 м/с и 7,35 м/с ($p<0,05$) и индекса отражения (RI) – 36,5% и 28,4% ($p<0,005$), соответственно. По результатам многофакторного анализа повышение RI ≥30,6% (ОШ 4,6; $p=0,0476$) и SI ≥7,9 м/с (ОШ 3,69; $p=0,019$) достоверно ассоциировано с наличием АГ. Разработана регрессионная модель, включающая возраст ≥35 лет, RI ≥30,6% и SI ≥7,9 м/с, позволяющая с чувствительностью 78% и специфичностью 62,1% прогнозировать наличие АГ у мужчин с низким и умеренным ССР.

Обсуждение и выводы: Мужчины с впервые выявленной АГ низкого и умеренного ССР имеют увеличение сосудистой жесткости, увеличение тонуса гладкомышечных терминальных мышечных артерий и распределительных артериол, увеличение скорости распространения пульсовой волны. Для прогнозирования наличия АГ у данных пациентов и определения показаний к дообследованию может использоваться разработанная прогностическая модель.

Введение

Большое внимание исследователей при изучении патогенеза и клинического течения артериальной гипертензии (АГ) уделяется процессам, происходящим на микроциркуляторном уровне, поскольку изменения сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) не только обусловливают повышение общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС), что является одним из ключевых механизмов формирования и поддержания АГ [1], но и приводят к ухудшению трофического обеспечения тканей, что влечет за собой поражение органов-мишеней (ПОМ) [2]. Ранняя диагностика и своевременное начало лечения с целью коррекции микроциркуляторных расстройств на стадии функциональных изменений являются ключевыми факторами в предотвращении прогрессирования патологии, развития осложнений и улучшении качества жизни пациентов.

Ввиду своей доступности и возможности проведения различных функциональных и фармакологических проб, кожа является наиболее удобным объектом для изучения МЦР. Сегодня из всех неинвазивных методов исследования МЦР кожи наиболее часто применяются видеокапилляроскопия (ВКС), лазерная допплеровская флоуметрия (ЛДФ) и фотоплетизмография (ФПГ). Дополняя друг друга, данные методы позволяют получать большой объем информации о состоянии различных звеньев МЦР кожи человека [3].

Результаты проведенных исследований демонстрируют различные изменения микрососудов кожи у пациентов с АГ [4-8]. Однако большинство проведенных работ посвящены изолированному изучению различных микрососудистых звеньев у пациентов с различной длительностью и стадией АГ, что не позволяет получить полное представление о состоянии микроциркуляции кожи, в том числе и в мужской популяции с АГ низкого и умеренного сердечно-сосудистого риска (ССР) на ранних стадиях развития патологии. Работ по комплексному неинвазивному исследованию различных отделов МЦР кожи ранее не проводилось, возможность использования показателей морфофункционального состояния микрососудов для диагностики АГ не определена, в связи с чем целью настоящей работы явилось проведение комплексного неинвазивного исследования структурно-функционального состояния различных звеньев МЦР кожи и выявление диагностических критериев, ассоциированных с наличием АГ у мужчин с низким и умеренным ССР.

Материалы и методы

В исследование включено 189 мужчин в возрасте от 30 до 60 лет (43 ± 7,9 лет), которые субъективно считали себя здоровыми и не принимали регулярную лекарственную терапию.

Дизайн исследования. За сутки до исследования исключались интенсивная физическая нагрузка и прием алкоголя, за 6 часов – прием тонизирующих напитков, за 2 часа – курение. Комплекс обследований начинали в 9:00 утра натощак и проводили в следующей последовательности: 1) сбор анамнеза, осмотр, антропометрия, измерение артериального

давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС); 2) исследование МЦР (ВКС, ЛДФ, ФПГ); 3) забор венозной крови для лабораторных исследований; 4) ультразвуковое исследование (УЗИ) сердца, брахиоцефальных (БЦА) и бедренных артерий (БА); 5) суточное мониторирование АД (СМАД). Исследование МЦР проводили в лаборатории с постоянно поддерживаемым микроклиматом (температура воздуха +23±1°С; влажность воздуха 40-60%).

Критериями исключения из исследования являлись: наличие в анамнезе болезней кровообращения, реваскуляризации в любом сосудистом бассейне, сахарного диабета; скорость клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м^2; повышение уровня печеночных трансаминаз >3 норм; уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) >4,9 ммоль/л и общего холестерина (ОХС) >8 ммоль/л; гипертрофия миокарда левого желудочка (ЛЖ) с индексом массы миокарда (ИММ) >115 г/м2; стеноз, недостаточность клапанов сердца умеренной и тяжелой степени; фракция выброса (ФВ) ЛЖ <50%; атеросклеротическое поражение БЦА или БА >25%.

Исследование микроциркуляции

Одномоментное комплексное исследование различных звеньев МЦР кожи (рисунок 1) проводили тремя неинвазивными методами на базе отечественных технологий.

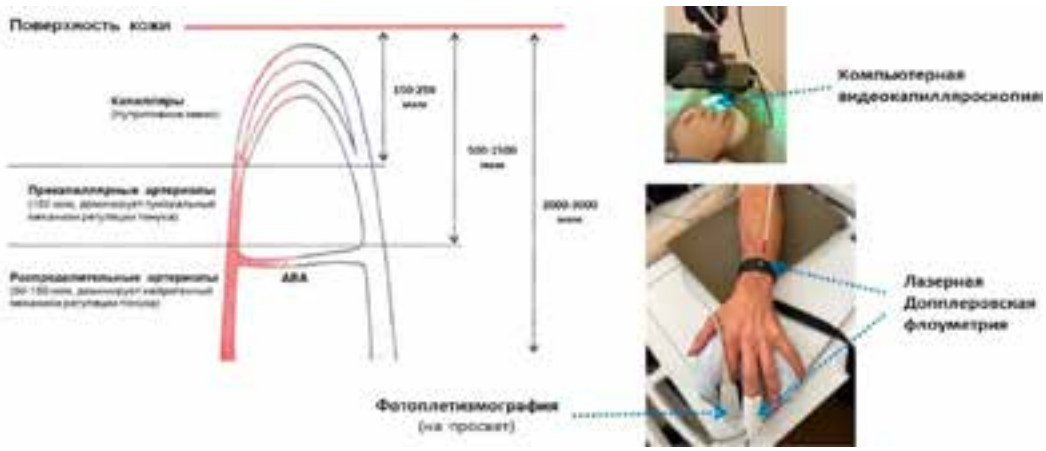


Рисунок 1. Схематическое изображение кровеносных сосудов МЦР. АВА – артериоло-венулярные анастомозы

Оценка состояния капиллярного русла производилась методом ВКС на 4-м пальце левой кисти в положении сидя. Использовался компьютерный видеокапилляроскоп «Капилляроскан-01» (ООО «Новые энергетические технологии» Москва, Россия). Определялись следующие параметры: размер перикапиллярной зоны (ПЗ) (мкм) – степень гидратации интерстициального пространства; функциональная плотность (кап/мм2) капиллярной сети (ФПКС) – количество функционирующих капилляров в покое; структурная плотность (кап/мм2) капиллярной сети (СПКС) при венозной окклюзии – максимальная плотность капиллярной сети (ПКС); коэффициент ФПКС/СПКС, отражающий вовлеченность капилляров кожи в кровоток в термонейтральных условиях.

Оценка состояния прекапиллярных артериол и посткапиллярных венул выполнялась методом ЛДФ с вейвлет-анализом колебаний кровотока в коже подушечки среднего пальца и предплечья левой верхней конечности в положении лежа на спине. Использовался двухканальный лазерный анализатор ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА» Москва, Россия). Базальную перфузию (БП) регистрировали в течение 10 минут, которую подвергали амплитудно-частотному вейвлет-преобразованию. Оценивали уровень тканевой перфузии (М) и усредненную по времени максимальную амплитуду (Ai) вазомоций для эндотелиального (Аэ), нейрогенного (Ан), миогенного (Ам), венулярного (Ав) и пульсового (Ас) механизмов модуляции микрокровотока [8]. Оценка перфузионной эффективности каждого регуляторного механизма производилась по формуле: Ai/M×100%.

Оценка состояния распределительных артериол и терминальных артерий производилась методом ФПГ «на просвет» с помощью программного комплекса «Ангиоскан-01» (ООО «Ангиоскан» Москва, Россия) на указательном пальце левой кисти. Оценивали следующие параметры: Alp75 (%) – индекс аугментации, корригированный по ЧСС 75 уд/мин; VA (лет) – возраст сосудистой системы; индекс жесткости (SI) (м/с) – показатель, отражающий среднюю скорость распространения ПВ (СРПВ); индекс отражения (RI) (%) – параметр, характеризующий тонус гладкомышечных клеток (ГМК) терминальных мышечных артерий и распределительных артериол; ED (мс) – продолжительность систолы; Spa (мм рт. ст.) – центральное систолическое давление в проксимальном отделе аорты и БЦА.

Статистическую обработку выполняли с помощью программ Statistica 10.0 («StatSoft Inc.», США) и SAS JMP 11 («SAS», США). Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q25; Q75]), качественные – в виде n (%). Значимость различий между двумя независимыми группами устанавливалась с помощью критерия U-Манна–Уитни для количественных показателей, с помощью критерия $\chi 2$ Пирсона для качественных показателей. Оценка влияния изучаемых факторов на зависимую переменную производилась в модели бинарной логистической регрессии с определением ОШ и 95% ДИ с пошаговым включением предикторов. Для оценки прогностических характеристик и определения отрезных точек количественных признаков применялся ROC-анализ. Статистическая значимость определена на уровне ошибки первого рода, при $p < 0,05$.

Результаты

В зависимости от уровня АД по данным СМАД все участники исследования были разделены на 2 группы. Первую группу (группа контроля - ГК) сформировали 70 мужчин с нормальным уровнем АД. Вторую группу (АГ) составили 119 мужчин (63%), у которых в соответствии с рекомендациями Минздрава РФ по диагностике и лечению АГ от 2020 г. была выявлена АГ. По результатам первичного статистического анализа мужчины с АГ имели

достоверно большую МТ (87,5 [81,25; 100,75] кг vs 81 [74,05; 90,38] кг, p<0,0001) и ИМТ (27,8 [25,75; 31,09] кг/м2 vs 25,95 [22,85; 28,18] кг/м2, p<0,0001) относительно ГК.

Учитывая наличие данных о влиянии повышенной МТ и ожирения на состояние МЦР кожи [9], для исключения влияния на конечный результат исследования различий по ИМТ, был проведен propensity score matching анализ между ГК и группой АГ с использованием метода поиска «ближайшего соседа» (nearest neighbor matching) в отношении подбора пар 1:1. После проведения propensity score matching анализа в дальнейший анализ было включено 118 мужчин: 59 пар, сопоставимые по возрасту и антропометрическим показателям. Основные клинические характеристики анализируемых групп представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика групп испытуемых после проведения PSM анализа

Параметр		**ГК (n=59)**	**АГ (n=59)**	**p**
Возраст (лет)		42 [35; 48]	44 [38,5; 51]	0,14
Рост (см)		178 [175; 182]	178 [174; 184]	0,62
МТ (кг)		85 [77; 91,9]	85 [76,15; 90]	0,94
ИМТ (кг/м^2)		26,5 [24,6; 28,4]	26,46 [24,8; 28,37]	0,97
Окружность талии (см)		94 [90; 100]	95 [89,5; 102]	0,43
Окружность бедер (см)		104 [100,5; 107]	103 [99; 108]	0,51
САД (мм рт.ст.)		**120 [110; 123]**	**124 [115,5; 136,5]**	0,0008
ДАД (мм рт.ст.)		**78 [70; 80]**	**82 [80; 90]**	<0,0001
ЧСС (уд/мин)		64 [58; 71,5]	64 [56; 70,5]	0,69
Курение (%)		14 (23,7%)	11 (18,6%)	0,74
Низкий ССР (%)		8 (13,6%)	3 (5,1%)	0,13
Умеренный ССР (%)		51 (86,4%)	56 (94,9%)	
Результаты СМАД				
Сутки	САД (мм рт.ст.)	**116 [112; 119,5]**	**126 [121; 133,5]**	**<0,0001**
	ДАД (мм рт.ст.)	**74 [72; 76]**	**83 [80; 88]**	**<0,0001**
День	САД (мм рт.ст.)	**119 [115; 125]**	**130 [125; 138]**	**<0,0001**
	ДАД (мм рт.ст.)	**77 [74,5; 80]**	**86 [83,5; 93]**	**<0,0001**
Ночь	САД (мм рт.ст.)	**104 [99; 108,5]**	**113 [108; 121]**	**<0,0001**
	ДАД (мм рт.ст.)	**65 [61; 67]**	**72 [69; 77]**	**<0,0001**

По данным эхокардиографии мужчины с АГ по сравнению с ГК имели больший ИММ ЛЖ – 84 [75; 92] г/м2 vs 78 [69; 87] г/м2 (p=0,0415) и меньший конечно-диастолический размер ЛЖ – 4,9 [4,65; 5,2] см vs 5,0 [4,8; 5,3] см (p=0,0321). По данным УЗИ БЦА и БА достоверных различий между группами не выявлено. По результатам лабораторных анализов крови все показатели находились в пределах нормативных значений, за исключением ОХС – 5,5 [5; 6] ммоль/л в группе АГ и 5,3 [4,8; 5,95] ммоль/л в ГК, и ХС ЛНП – 3,48 [3,15; 4,01] ммоль/л и 3,36 [2,91; 3,93] ммоль/л, соответственно, и достоверно между группами не различались. По данным СМАД мужчины с АГ относительно ГК имели большее САД и диастолическое АД (ДАД) независимо от времени суток (таблица 1).

По результатам ВКС и ЛДФ достоверных различий по состоянию капиллярного, пре- и посткапиллярного звеньев МЦР между группами не выявлено. По данным ФПГ мужчины с

АГ имели достоверно более высокие значения Alp75 (3,8 [-4,65; 12,8] % vs -5,25 [-14,18; 4,08] %, p<0,001), VA (49 [41,5; 54] лет vs 43 [39; 47,75] лет, p<0,01), SI (7,6 [7,25; 8,1] м/с vs 7,35 [7; 7,8] м/с, p=0,02), RI (36,5 [28,6; 44,3] % vs 28,4 [25,3; 38,35] %, p=0,004), Spa (120 [116; 132] мм рт.ст. vs 116 [111; 124,5] мм рт.ст., p=0,02) и более низкие значения ED (305 [289,5; 318,5] мсек vs 323,5 [311,25; 333,75] мсек, p=0,0002) относительно ГК.

Для оценки связи параметров ФПГ с наличием АГ, показатели, достоверно различавшиеся между исследуемыми группами, были включены в однофакторный анализ (таблица 2). Затем показатели, продемонстрировавшие уровень значимости p<0,1, пошагово включены в многофакторный регрессионный анализ (таблица 2), в результате которого было выявлено, что при увеличении показателя "SI" на 1 шансы наличия АГ увеличивались в 1,94 раза, а при увеличении показателя "RI" на 1 шансы наличия АГ увеличивались в 1,05 раза.

Таблица 2. Связь показателей ФПГ с вероятностью выявления АГ

Фактор	ОШ (95% ДИ)	p
Однофакторный анализ		
Alp75, %	1,04 (1,02; 1,07)	0,003
RI, %	1,04 (1,01; 1,08)	0,02
SI, м/сек	1,74 (0,98; 3,06)	0,06
VA, лет	1,05 (1,01; 1,09)	0,02
ED, мсек	0,98 (0,96; 0,99)	0,006
SPa, мм рт.ст.	1,04 (1,01; 1,07)	0,02
Многофакторный анализ		
RI, %	1,05 (1,01; 1,10)	0,01
SI, м/сек	1,94 (1,02; 3,68)	0,04
Возраст, лет	1,01 (1,00; 1,01)	0,05

Далее с помощью ROC-анализа для выделенных показателей были определены отрезные точки – SI≥7,9 (м/сек), RI≥30,6 (%), возраст ≥35 (лет) и разработана многофакторная регрессионная модель для расчета вероятности наличия АГ в зависимости от показателя "SI≥7,9", показателя "RI≥30,6" с поправкой на возраст пациентов (таблица 3).

Таблица 3. Структура логистической регрессионной модели для целевого показателя «АГ»

Фактор	ОШ (ДИ95%)	Коэфф. регрессии	p
Константа	–	-2,066	0,003
Возраст≥35 лет	5,64 (1,43; 22,35)	0,959	0,023
RI≥30,6%	4,60 (1,93; 10,98)	1,378	0,048
SI≥7,9 м/сек	3,69 (1,40; 9,67)	1,142	0,019

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

$$z = -2{,}066 + 1{,}142X_{SI \geq 7{,}9} + 1{,}378X_{RI \geq 30{,}6} + 0{,}959X_{Возраст \geq 35}$$

где P – вероятность наличия АГ, e= 2,718 (число Эйлера), X – переменные имеют бинарное значение (0 – отсутствие признака, 1 – наличие признака).

Полученная регрессионная модель являлась статистически значимой ($p<0{,}0001$). Исходя из значения коэффициента детерминации (R^2) Найджелкерка, модель объясняет 24,3% наблюдаемой дисперсии пациентов с АГ. При оценке зависимости между вероятностью АГ и значением логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (рисунок 2). Площадь под ROC-кривой составила 0,744±0,045 с 95% ДИ: 0,655 – 0,833 ($p<0{,}0001$). Пороговое значение равнялось 0,567. Наличие АГ прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 78,0% и 62,1%, соответственно.

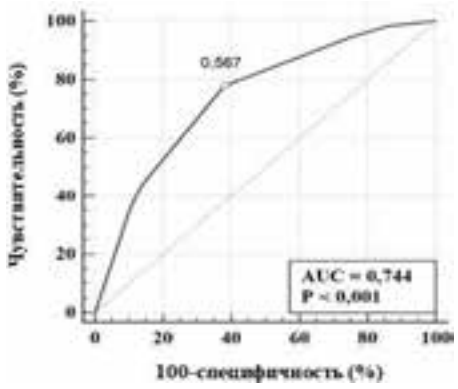


Рисунок 2. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности показателя "АГ" от значения логистической функции P

Обсуждение

Оценку капиллярного звена МЦР проводили методом ВКС. Размер ПЗ отражает степень гидратации интерстициального пространства и является косвенным показателем состояния фильтрационно-реабсорбционного механизма обмена. Полученные данные указывают на отсутствие нарушений фильтрационно-реабсорбционного механизма обмена веществ с развитием скрытой задержки жидкости в тканях кожи у мужчин с АГ низкого и умеренного ССР.

Не различаются между собой и значения функциональной и структурной ПКС, что не согласуются с данными других исследователей о роли микрососудистого разрежения в генезе АГ [10, 11]. Сопоставляя полученные данные с результатами предыдущих исследований, можно предположить, что разрежение капиллярного русла развивается по мере прогрессирования заболевания, что приводит к уменьшению площади обменной поверхности капилляров, способствуя нарушению кровоснабжения тканей и развитию ПОМ. Для

подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дальнейших проспективных исследований, посвященных изучению капиллярного русла кожи у мужчин с АГ по мере прогрессирования патологии.

Функциональное состояние путей притока крови к капиллярам и ее оттока, в которых преобладает гуморальный механизм регуляции тонуса, изучали методом ЛДФ с амплитудно-частотным вейвлет-анализом колебаний микрокровотока. Результаты ЛДФ продемонстрировали отсутствие изменения функционального состояния прекапиллярных артериол у мужчин с АГ низкого и умеренного ССР. Сопоставляя полученные данные с результатами предыдущих работ, в ходе которых по данным ЛДФ были продемонстрированы различные изменения функционального состояния микрососудов [4, 12-14], можно предположить, что изменения данных микрососудов у пациентов с АГ могут возникать по мере прогрессирования заболевания, отражать особенности индивидуально-типологических расстройств микроциркуляции и видоизменяться в зависимости от тяжести течения патологического процесса и адекватности контроля АД на фоне проводимого лечения.

Для оценки функционального состояния терминальных мышечных артерий и распределительных артериол кожи, в которых преобладает нейрогенный механизм регуляции тонуса, применяли метод ФПГ на просвет. Результаты ФПГ продемонстрировали увеличение тонуса ГМК данных сосудов (RI) у мужчин с впервые выявленной АГ. Повышение тонуса может являться следствием как функциональных изменений ГМК в виде повышенной чувствительности к местным тканевым и системным циркулирующим вазоконстрикторным агентам (ангиотензин II, норадреналин и др.), так и развитием эутрофического ремоделирования ГМК, которое является наиболее ранним специфическим изменением микрососудов у пациентов с АГ [15]. Однако, полученные в ходе настоящего исследования данные не согласуются с результатами ранее проведенных работ, в ходе которых статистически значимого увеличения тонуса ГМК резистивных сосудов у пациентов с АГ относительно лиц с нормальным АД не наблюдалось [6, 16]. Это может быть обусловлено возможной обратимостью нарушений эластических свойств сосудов и снижением их тонуса на фоне регулярного приема антигипертензивной терапии.

Контурный анализ ПВ продемонстрировал увеличение индекса аугментации (Alp75) и индекса жесткости (SI) у мужчин с АГ низкого и умеренного ССР, что согласуется с данными ранее проведенных исследований [6, 16, 17]. Увеличение артериальной жесткости является характерным изменением артерий в условиях АГ. Данные изменения могут являться следствием деградации эластических компонентов (эластин) и увеличения синтеза коллагена ГМК сосудистой стенки, что влечет за собой дезорганизацию внеклеточного матрикса и снижение эластических свойств артерий [18]. Уменьшение эластичности артерий приводит к снижению их демпфирующей способности, увеличению СРПВ с более ранним ее

достижением МЦР, что является основным фактором их повреждения, и, как следствие, нарушения адекватного кровоснабжения тканей с развитием ПОМ.

Результаты многофакторного анализа продемонстрировали, что у мужчин с низким или умеренным ССР, по данным ФПГ, повышение RI ≥30,6% (ОШ 4,6; p=0,0476) и SI ≥7,9 м/с (ОШ 3,69; p=0,019) достоверно ассоциировано с наличием АГ. Разработанная на основании полученных данных многофакторная регрессионная модель, включающая в себя возраст ≥35 лет, RI ≥30,6% и SI ≥7,9 м/сек, может быть использована для определения вероятности наличия АГ у мужчин с низким или умеренным ССР и принятия решений о проведении дополнительных обследований, включая СМАД, с целью исключения или подтверждения наличия АГ.

Заключение

1. Разрежения капиллярного русла, уменьшения площади обменной поверхности и признаков скрытой задержки воды в интерстициальном пространстве кожи у лиц с впервые выявленной АГ не отмечается;
2. Повышения тонуса прекапиллярных артериол и уменьшения уровня тканевой перфузии кожи не выявлено;
3. Повышение ОПСС на ранних стадиях АГ может быть обусловлено увеличением тонуса мелких мышечных артерий и артериол, в которых доминирует нейрогенный (симпатический) механизм регуляции тонуса.
4. Разработанная многофакторная регрессионная модель может быть использована для определения вероятности наличия АГ у мужчин с низким или умеренным ССР и принятия решений о проведении дополнительных обследований, включая СМАД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Frohlich E.D. Pathophysiology: disease mechanisms / E. D. Frohlich, H. Ventura // Hypertension. – 2009. – P. 1–14.
2. Маколкин В.И. Микроциркуляция и поражение органов-мишеней при артериальной гипертонии / В.И. Маколкин // Кардиология. – 2006. – № 2. – С.83–85.
3. Cracowski J. L. Human Skin Microcirculation / J. L. Cracowski, M. Roustit // Compr. Physiol. – 2020. – Vol. 10 (3) – P. 1105–1154.
4. Spectral analysis of laser Doppler skin blood flow oscillations in human essential arterial hypertension / M. Rossi, A. Carpi, C. Di Maria et al. // Microvasc. Res. – 2006. – Vol. 72 (1–2) – P. 34–41.
5. Эндотелиальная функция у пациентов с артериальной гипертензией высокого риска / О. М. Драпкина, О. Н. Дикур, Я. И. Ашихмин и др. // Артериальная Гипертензия – 2010. – Т. 16, № 2 – С. 156–163.
6. Взаимосвязь модифицируемых факторов риска с показателями артериальной жесткости и сосудистым возрастом у пациентов с артериальной гипертензией / А. М. Туктаров, Т. С. Казанцева,

А. Е. Филиппов и др. // Рациональная Фармакотерапия В Кардиологии – 2021. – Т. 17, № 1 – С. 42–48.
7. Nailfold capillaroscopy in common non-rheumatic conditions: A systematic review and applications for clinical practice / J. Ciaffi, N. Ajasllari, L. Mancarella et al. // Micro-vasc. Res. – 2020. – Vol. 131 – P.104036.
8. Stefanovska A. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique / A. Stefanovska, M. Bracic, H. D. Kvernmo // IEEE Trans. Biomed. Eng. – 1999. – Vol. 46 (10) – P. 1230–1239.
9. State of cutaneous microcirculation in patients with obesity / I. O. Andreieva, O. I. Riznyk, S. P. Myrnyi et al. // Wiad. Lek. – 2021. – Vol. 74 (9 cz 1) – P. 2039–2043.
10. Structural Skin Capillary Rarefaction in Essential Hypertension / T. F. T Antonios, D. R. J. Singer, N. D. Markandu et al. // Hypertension – 1999. – Vol. 33 (4) – P. 998–1001.
11. Impaired Skin Capillary Recruitment in Essential Hypertension Is Caused by Both Functional and Structural Capillary Rarefaction / E. H. Serné, R. O. B. Gans, J. C. ter Maaten et al. // Hypertension – 2001. – Vol. 38 (2) – P. 238–242.
12. Федорович, А.А. Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертензии по данным лазерной допплеровской флоуметрии / А. А. Федорович // Регионарное кровообращение и микроциркуляция – 2010. – Т. 9, № 1 – С. 49–60.
13. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser Doppler flowmetry in patients with essential hypertension / K. Farkas, E. Kolossváry, Z. Járai et al. // Atherosclerosis – 2004. – Vol. 173 (1) – P. 97–10.
14. Функциональные особенности микроциркуляции у больных артериальной гипертонией и их прогностическое значение / А. П. Васильев, Н. Н. Стрельцова, М. А. Секисова и др. // Кардиоваскулярная Терапия И Профилактика – 2011. – Т. 10, № 5 – С. 14–19.
15. Park J.B. Small artery remodeling is the most prevalent (earliest?) form of target organ damage in mild essential hypertension / J. B. Park, E. L. Schiffrin // J. Hypertens. – 2001. – Vol. 19 (5) – P. 921–930.
16. Иванов С.В. Жесткость сосудистой стенки и отражение пульсовой волны в связи с артериальной гипертензией / С. В. Иванов, А. Н. Рябиков, С. К. Малютина // Си-бирский научный медицинский журнал – 2008. – Т. 28, № 3 – С.9–12.
17. Контурный анализ центральной и периферической пульсовых волн у здоровых людей и больных артериальной гипертонией / В. А. Милягин, Д. Е. Филичкин, К. В. Шпынев и др. // Артериальная Гипертензия – 2009. – Т. 15, № 1 – С. 78–85.
18. Avolio A. Quantification of alterations in structure and function of elastin in the arterial media / A. Avolio, D. Jones, M. Tafazzoli-Shadpour // Hypertension – 1998. – Vol. 32 (1) – P. 170–175.

СПОСОБЫ ОЦЕНКИ НУТРИТИВНОГО СТАТУСА ПРИ ПСОРИАЗЕ (НА ПРИМЕРЕ ЛИЦ МУЖСКОГО ПОЛА СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА С ИЗБЫТКОМ МАССЫ ТЕЛА)

В.Д. Олейникова, О.Е. Рябыш, А.А. Крюкова, С.О. Иващенко

Руководители: О.А. Сидоренко, В.А. Дударева, И.Г. Дядикова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Введение. Псориаз представляет собой хроническое пролиферативное и иммуноассоциированное воспалительное заболевание кожи мультифакториального генеза, характеризующееся возникновением папулезных высыпаний, что является отражением воспаления, гиперпролиферации и аномальной дифференци- ровки кератиноцитов эпидермиса и массивной инфильтрации воспалительных иммунных клеток [1-6]. Данное заболевание значительно ухудшает качество жизни пациентов [2], в том числе и потому, что является неизлечимой патологией, затрагивающей и другие органы и системы (опорно-двигательный аппарат, орган зрения и другие), а также приводящей к повышенному риску развития и ухудшению течения ряда заболеваний, таких как сердечнососудистые, ожирение, метаболический синдром, депрессии, нарушения сна и ряд других [4, 5, 7, 8]. Псориаз затрагивает около 125 миллионов человек во всем мире. Распространенность его в среднем колеблется от 0,2% до 4,8% в популяции.

Диетические вмешательства как вариант потенциального нефармакологического вмешательства длительное время считались недооцененным аспектом в лечении дерматологических заболеваний, в т.ч. псориаза [9, 16]. Мультифакториальная природа псориаза требует тщательного изучения роли питания, поскольку приверженность здоровому и сбалансированному питанию способствует уменьшению степени тяжести клинических проявлений заболевания и предотвращению прогрессирования, следовательно, значительно улучшает качество жизни больных [18].

Задачами исследования явились: комплексная нутритивная оценка на основании оценки нутритивного статуса, фактического питания и состава тела; создание единой модели питания и пищевого статуса и универсальных рекомендаций по коррекции питания пациента с псориазом в стадии обострения.

В основу нашей работы была положена концепция понимания нутритивного статуса, как патологического состояния, при котором потребление пищи не соответствует потребностям организма в энергии или питательных веществах, может возникать из-за недостаточного потребления макроэлементов или микроэлементов, аномально повышенного расхода энергии, неправильного усвоения питательных веществ или любой их комбинации [19].

Материалы и методы. В исследование было включено 48 пациентов, находившихся на лечении в терапевтическом отделении клиники ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России с диагнозом псориаз обыкновенный (критерии постановки диагноза согласно клиническим рекомендациям «Псориаз», 2023) [1] в возрасте от 19 до 64 лет: 23 мужчины и 25 женщин, средний возраст исследуемых составил 48,3± 4,4 лет.

Пациенты были разделены на 4 группы по гендерному и возрастному признакам (группа 1 - мужчины 18-39 лет, группа 2 - мужчины 40-65 лет, группа 3 - женщины 18-39 лет, группа 4 - женщины 40-65 лет). Применена возрастная периодизация согласно Методическим рекомендациям МР 2.3.1.0253-21 "Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации" [17]. Длительность заболевания варьировалась от одного года до 15 лет Критерии включения в исследование: наличие клинически подтвержденного псориаза в прогрессирующей стадии с тяжелой степенью течения (индекс PA51) более 20(определялось по международному индексу оценки степени тяжести псориаза PA51)), возраст от 18 до 65 лет, информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: беременность и лактация, наличие сопутствующих соматических хронических заболеваний в стадии деком пенсации/обострения, наличие других дерматологических заболеваний, алкоголизм и/или наркомания. Этапы исследования: поста- новка/подтверждение диагноза, оценка нарушений питания, исследование фактического питания и проведение биоимпедансометрии. Все этапы проводились одномоментно. Этапы исследования фактического питания и проведения биоимпедансометрии проводились среди лиц мужского пола среднего возраста (40-65 лет), выборка 15 человек. Этап постановки/подтвержде- ния диагноза (включено 48 пациентов): всем пациентам проводилась оценка выраженности основных клинических симптомов псориаза (распространённость, степень тяжести, характер течения и активности псориатического процесса), объективный осмотр. Степень тяжести псориатического процесса определялся с международным индексом PA51 (критерии постановки диагноза согласно

клиническим рекомендациям «Псориаз», 2023) [1]. Этап оценки нарушений питания: частично осуществлялся согласно Приложения N95 «Оценка нарушений питания» Приказа Минздрава России от 05.08.2003 г. N9330 «О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебнопрофилактических учреждениях Российской Федерации» [13]. Согласно «Оценке нарушений питания» оценивались антропометрические (рост; масса тела; индекс массы тела (ИМТ); биохимические (общий белок) и иммунологические показатели (общее количество лимфоцитов). Не были включены в исследование такие показатели как окружность плеча и измерение кожножировой складки трицепса, поскольку в рутинной клинической практике они чаще всего не определяются. Оценка нарушений питания была дополнена такими показателями, которые входят в Стандарт медицинской помощи взрослым при псориазе [12], а также в стандарты оказания помощи при системных воспалительных заболеваниях, которые могут сопровождать или является в том числе следствием псориаза.Нами были включены в комплексную оценку нарушений питания следующие показатели: общий (клинический) анализ крови развернутый, анализ крови биохимический общетерапевтический, общий (клинический) анализ мочи, анализ крови по оценке нарушений липидного обмена биохимический. Таким образом нами оценивались: исследование общего анализа крови (ОАК) :эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, гемоглобин, гематокрит, скорость оседания эритроцитов (СОЭ); биохимические показатели: аспартатами- нотрансферазы (АСТ) и аланинами- нотрасферазы (АЛТ) и их соотношение (АСТ/АЛТ, коэффициент де Ритиса), глюкоза, мочевина, мочевая кислота, С-реактивный белок (СРВ); показатели липидного профиля : холестерин, триацилглицериды, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП); общий анализ мочи (ОАМ) сдельный вес, реакция (рИ). Таким образом нами были охвачены все виды обмена и возможные варианты их нарушений.Индекс массы тела рассчитывался по формуле ВОЗ: ИМТ = масса те- ла(кг)/рост (м2) [29]. Коэффициент де Ритиса рассчитывался как отношение АСТ к АЛТ (АСТ/АЛТ) [30]. Этап исследования фактического питания осуществлялся с помощью Программы анализа состояния питания человека версия 1.2.4, зарегистрированной Российским агентством по патентам и товарным знакам 09.02.04 №2004610397 ГУ НИИ питания РАМН. Полученные данные сравнивались с МР Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ (2021) для коэффициента физической активности (КФА) 1,4 [11]. Этап проведения биоимпедансометрии проводился на

программном обеспечении для проведения измерений и расчета показателей состава тела человека - АИСТ (Диамант у12). Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием пакета прикладных программ «Excel 2019», использовались методы описательной статистики.

Результаты. Анализ антропометрических данных показал, что в группе 1 среднее значение ИМТ составило 25,5 ±3,9, во 2-й - 28,1 ±3,9, в 3-й - 22,34±2,5, в 4-й - 29,34 ±5,39. При оценке биохимических показателей было выявлено следующее: общий белок в группе 1 - 67 ± 2,9 (г/л), во второй 69,9 ± 2,4 (г/л), в 3-й - 70 ± 4 (г/л), в 4-й - 67,8 ±5,14 (г/л). Иммунологические показатели 1-й группы: общее число лимфоцитов (%) - 32,50 ±2,25, во второй - 30,59 ±4,4, в третей - 26 ±4, в четвертой группе - 29,86 ±10,23. Коэффициент де Ритиса - в группе 1 - 0,57 ± 0,19, во второй 1,05 ± 0,4=96, в 3-й -1 ± 0,6, в 4-й - 0,76 ±0,32. ОАК во всех группах в среднем - уровень эритроцитов: 4,5*10/12/л, тромбоцитов: 10,6 *10/9/л, лейкоцитов : 7*10/9/л, гемоглобина: 140 г/л. СОЭ (мм/ч) , в группе 1 - 7,67 ± 1,86, во второй 9,65 ± 5,95, в 3-й - 12,67 ± 6,42 в 4-й - 20,14±16,32. В биохимическом анализе крови из всех исследованных показателей, статистическую значимость продемонстрировал показатель СРВ , в группе 1 - 5,40 ± 0,54, во второй группе 6,77 ± 4,62, в 3-й - 5,53 ± 0,5 в 4-й - 6,73±3,19. Значения следующих показателей в среднем во всех группах составили : глюкоза - 6,2 ммоль/л, общий биллирубин - 16,5 мкмоль/л, мочевина -7,4 ммоль/л . В исследовании липидного профиля значение холестерина в группах составили: 1 - 5, 1± 0,7 (ммоль/л), во второй 6,5 ± 1,2 (ммоль/л), в 3-й - 5,3 ± 0,6 (ммоль/л), в 4-й - 6,8 ±1, 32 (ммоль,л). ОАМ в среднем в группах: удельный вес мочи 1023 ± 5,54, pH- 5,4 ± 0,68.Анализ фактического питания: энергетическая ценность пищевого рациона составила 2842,9 ± 1900,5 ккал/сут. (при норме 2300 ккал), потребление белка 105,4 г. + 62,52 (норма 81г.), общего жира - 101,4 г. ± 53,23 (норма 77 г.), насыщенные жирные кислоты 61,2 г ± 55,33 (норма 25,6 г), полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) 31,6 мг ± 39,74 (норма 15-25,6 г), ПНЖК п-6 28,6 мг ± 35,84 (норма 12-20 г), ПНЖК п-3 3,85 мг ± 4,54 (норма 2,5-5 г), холестерин 374,6 мг ± 271,6 (норма менее 200 мг), моно- и дисахара 85,9 + 56,15 (норма менее 57,5), добавленный сахар 28,5 г ± 38,95 (норма менее 57,5 г), общие углеводы - 154,74 г ± 84,2 (норма 322г.), пищевые волокна 6,37 г ± 5,5 (норма 20-25 г), натрий 5,06 г ±3,1 (норма 1,3 г), калий 3890,4 мг ± 3258,43 (норма 3500 мг), кальций - 967,12 мг. ± 650 (норма 1000 мг.), магний - 430 мг. ± 335,7 (норма - 420 мг.), фосфор - 1396,4 мг. ± 950 (норма - 700 мг), железо -

26,9 мг. ± 31,64 (норма 10 мг.), витамин А – 882 мг. + 645,8 (900 мг.), витамин В1 - 2,17 мг. ± 2,7 (норма - 1,5 мг.), витамин В2 - 2,28 мг. ±

2,01(норма 1,8 мг.), ниацин - 25,6 мг. ± 27,6 (норма 20 мг.), витамин С - 113,7 мг ± 133,004 (норма

100 мг), этиловый спирт 2,86 ± 4,94 (нормы нет). Анализ результатов биоимпедансометрии : вес

83,89 ± 17,65 кг; обхват тела 93,26114,88; обхват бедер 103,00 ± 8,64; обхват тела/обхват бедер 0,91 ± 0,10; ИМТ 27,97 ± 4,98; активное сопротивление 28 кгц (ом) - 184,56 ± 64,21; реактивное сопротивление 115 кгц (ом) - 116,88 ± 73,17; жировая масса - 25,90 ± 18,72; доля жировой массы в общей массе тела - 23,37 ± 12,34; безжировая масса тела - 65,75 ± 18,27; активная клеточная масса - 43,44 ± 10,06; доля активной клеточной массы в тощей массе тела - 46,60 ± 4,75; объем воды - 49,54 ± 8,83; общий объем жидкостей - 42,85 ± 6,80; внеклеточная жидкость - 16,79 ± 6,95; внутриклеточная жидкость - 25,09 ± 3,73; основной обмен - 1579,67 ± 488,66; гематокрит - 0,58± 0,92; фазовый угол 28 - 9,09 ±1,47; фазовый угол 115 - 31,33 ± 31,28.

Выводы и обсуждение. У исследуемой группы пациентов мужского пола среднего возраста с псориазом обыкновенным имеются следующие нарушения питания: избыток массы тела, повышение системного маркера воспаления (СРВ), дислипидемия. Каждый из этих показателей является предиктором системного воспаления, следовательно, вносит значимый вклад в ухудшение состояния и усугубляет течение основного заболевания.Фактическое питание характеризуется: избыточной энергетической ценностью за счет чрезмерного (выше рекомендуемой нормы) [12] потребления белка, общего жира, насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, холестерина, моно- и дисахаридов, что при длительном отсутствии коррекции может привести к развитию хронического воспаления низкой интенсивности, увеличению риска хронических неинфекционных заболеваний, ожирению,сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), сахарному диабету 2 типа. Имеет место нарушение адекватного соотношения омега-3 к омега-6 как 5- 10:1 [14]. Нарушение соотношения и/или избыточное потребление полиненасыщенных жирных кислот приводит к конкуренции между ферментами удлинения и десатурации за эйкозапентаеновую кислоту и арахидоновую кислоту в пользу последней на 40-50%, являющейся предшественником простагланди- нов и тромбоксанов 2 и 4 серии, вызывающих повышение тромбообразования, артериального давления и воспаления [19]. В рационах отмечается дефицит общих углеводов, пищевых волокон, что может негативно отразиться не только

на микробном пейзаже, но и степени тяжести течения псориаза, т.к. адекватное потребление натуральных пищевых волокон связано с меньшим количеством метаболических заболеваний (ожирение, диабет и сердечно-сосудистые заболевания), играет важную роль в здоровье кишечника [18], а также имеется доказанная взаимосвязь между тяжестью и статусом псориаза с изменениями микробиома кишечника [15]. Микронутриентный состав рационов характеризуется избыточным содержанием натрия, калия, магния, фосфора, железа, витаминов B1, B2, PP и C, и недостаточным содержанием кальция и витамина A. Такой дисбаланс микронутриентов является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, констипации, а также увеличивает риск нарушения иммунной системы. Состав тела характеризуется избытком массы тела, превалированием жировой массы, низкой активной клеточной массы. Что повышает риск развития воспаления. Также характерен низкий ответ на терапию, при условии высоких доз препаратов, и невозможность пациентов достичь полного терапевтического эффекта терапии.Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи дисбаланса поступления основных пищевых веществ, а также витаминов и минералов, что имеет отражение на составе тела, а также некоторых биохимических показателях крови, а именно гиперхолестеринемии. С одной стороны, согласно действующему законодательству [17] данной категории пациентов должен быть назначен основной вариант диеты, однако с учетом полученных данных можно рекомендовать низкокалорийную диету с индивидуальной коррекцией рационов не только за счет соответствующего соотношения белков, жиров и углеводов, но также необходима коррекция и микронутриентного состава с целью выработки персонифицированной тактики лечения и профилактики системных воспалительных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kamata M, Tada Y. Dendritic Cells and Macrophages in the Pathogenesis of Psoriasis. Front Immunol. 2022 Jun 28;13:941071. doi: 10.3389/fimmu.2022.941071. PMID: 35837394; PMCID: PMC9274091

van de Kerkhof PC. From Empirical to Pathogenesis-Based Treatments for Psoriasis. J Invest Dermatol. 2022 Jul;142(7):1778-1785. doi: 10.1016/j.jid.2022.01.014. Epub 2022 Mar 3. PMID: 35249726.

Tashiro T, Sawada Y. Psoriasis and Systemic Inflammatory Disorders. Int J Mol Sci. 2022 Apr 18;23(8):4457. doi: 10.3390/ijms23084457. PMID: 35457278; PMCID: PMC9028262.

2. Nair PA, Badri T. Psoriasis. 2022 Apr 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 28846344.

Garbicz J, Całyniuk B, Górski M, Buczkowska M, Piecuch M, Kulik A, Rozentryt P. Nutritional Therapy in Persons Suffering from Psoriasis. Nutrients. 2021 Dec 28;14(1):119. doi: 10.3390/nu14010119. PMID: 35010995; PMCID: PMC8747310.

3. Kamata M, Tada Y. Dendritic Cells and Macrophages in the Pathogenesis of Psoriasis. Front Immunol. 2022 Jun 28;13:941071. doi: 10.3389/fimmu.2022.941071. PMID: 35837394; PMCID: PMC9274091.

4. Bu J, Ding R, Zhou L, Chen X, Shen E. Epidemiology of Psoriasis and Comorbid Diseases: A Narrative Review. Front Immunol. 2022 Jun 10;13:880201. doi: 10.3389/fimmu.2022.880201. PMID: 35757712; PMCID: PMC9226890.

Nair PA, Badri T. Psoriasis. 2022 Apr 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 28846344.

5. van de Kerkhof PC. From Empirical to Pathogenesis-Based Treatments for Psoriasis. J Invest Dermatol. 2022 Jul;142(7):1778-1785. doi: 10.1016/j.jid.2022.01.014. Epub 2022 Mar 3. PMID: 35249726.

6. Landriscina A, Friedman AJ. Integrating lifestyle-focused approaches into psoriasis care:

improving patient outcomes? Psoriasis (Auckl). 2016 Jan 19;6:1-5. doi:10.2147/PTT.S81957. PubMed PMID: 29387590; PubMed Central PMCID: PMC5683118.

7. Debbaneh M, Millsop JW, Bhatia BK, Koo J, Liao W. Diet and psoriasis, part I: Impact of weight loss interventions. J Am Acad Dermatol. 2014 Jul;71(1):133-40. doi:10.1016/j.jaad.2014.02.012.

Epub 2014 Apr 4 PubMed PMID: 24709272; PubMed Central PMCID: PMC4065614.

8. Barrea L, Nappi F, Di Somma C, Savanelli MC, Falco A, Balato A, Balato N, Savastano S. Environmental Risk Factors in Psoriasis: The Point of View of the Nutritionist. Int J Environ Res Public

Health. 2016 Jul 22;13(5):743. doi: 10.3390/ijerph13070743.PubMed PMID: 27455297; PubMed Central PMCID: PMC4962284

9. Silverio R, Gonçalves DC, Andrade MF, Seelaender M. Coronavirus Disease 2019 (COVID19) and Nutritional Status: The Missing Link? Adv Nutr. 2021 Jun 1;12(3):682-692. doi: 10.1093/advances/nmaa125. PMID: 32975565; PMCID: PMC7543263.

10. Halioua B, Chelli C, Misery L, Taieb J, Taieb C. Sleep Disorders and Psoriasis: An Update. Acta Derm Venereol. 2022 Apr 27;102:adv00699. doi: 10.2340/actadv.v102.1991. PMID: 35191513; PMCID: PMC9574693.

11. Tashiro T, Sawada Y. Psoriasis and Systemic Inflammatory Disorders. Int J Mol Sci. 2022 Apr 18;23(8):4457. doi: 10.3390/ijms23084457. PMID: 35457278; PMCID: PMC9028262.

12. Wu JJ, Kavanaugh A, Lebwohl MG, Gniadecki R, Merola JF. Psoriasis and metabolic syndrome: implications for the management and treatment of psoriasis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2022 Jun;36(6):797-806. doi: 10.1111/jdv.18044. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35238067; PMCID: PMC9313585.

13. Tashiro T, Sawada Y. Psoriasis and Systemic Inflammatory Disorders. Int J Mol Sci. 2022 Apr 18;23(8):4457. doi: 10.3390/ijms23084457. PMID: 35457278; PMCID: PMC9028262.

14. Buhaș MC, Gavrilaș LI, Candrea R, Cătinean A, Mocan A, Miere D, Tătaru A. Gut Microbiota in Psoriasis. Nutrients. 2022 Jul 20;14(14):2970. doi: 10.3390/nu14142970. PMID: 35889927; PMCID: PMC9321451.

15. Katta R., Desai S.P. Diet and dermatology: The role of dietary intervention in skin disease. J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2014;7:46–51.

16. Bragazzi NL, Sellami M, Salem I, Conic R, Kimak M, Pigatto PDM, Damiani G. Fasting and Its Impact on Skin Anatomy, Physiology, and Physiopathology: A Comprehensive Review of the Literature. Nutrients. 2019 Jan 23;11(2):249. doi:10.3390/nu11020249. PubMed PMID: 30678053; PubMed Central PMCID: PMC6413166.

17. Alotaibi HA. Effects of Weight Loss on Psoriasis: A Review of Clinical Trials. Cureus. 2018 Oct 24;10(10):e3491. doi: 10.7759/cureus.3491. PubMed PMID: 30648033; PubMed Central PMCID: PMC6318144

18. Zuccotti E., Oliveri M., Girometta C. et al. Nutritional strategies for psoriasis: current scientific evidence in clinical trials // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2018 Vol. 22, N 23 P. 8537–8551. doi: 10.26355/eurrev_201812 _16554

19.Pona A, Haidari W, Kolli SS, Feldman SR. Diet and psoriasis. Dermatol Online J. 2019 Feb 15;25(2):13030/qt1p37435s. PMID: 308

ММП-9 - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У ПАЦИЕНТОВ С ИБС

Д.В. Шумаков, М.А. Попов, Д.И. Зыбин

Отделение кардиохирургии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110. Москва, Россия

Шумаков Дмитрий Валерьевич – член-корр. РАН, д.м.н., профессор, руководитель отдела хирургии сердца и сосудов ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2,
e-mail: sdvtranspl@rambler.ru, ORCID: 0000- 0003-4204-8865

Попов Михаил Александрович – к.м.н., старший научный сотрудник отделения кардиохирургии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2,
e-mail: popovcardio88@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0316-8410

Зыбин Дмитрий Игоревич – к.м.н., руководитель отделения кардиохирургии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2,
e-mail: poison1983@ inbox.ru, ORCID: 0000-0001-7087-5441

Актуальность. Мы стремились выяснить, возможно ли использование уровня концентрации матриксной металлопротеиназы-9 в биоптатах миокарда и плазме крови у пациентов с ИБС, осложненной аневризмой левого желудочка, в качестве прогностического маркера, с целью определения оптимальной тактики лечения.

Материалы и методы. В данной статье продемонстрировано два исследования, посвященных прогностической ценности ММП-9 у пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий и аневризмой левого желудочка. Всем пациентам была выполнена хирургическая реконструкция левого желудочка с аортокоронарным шунтированием. При этом пациенты были разделены на две группы. В первой группе исследовали концентрацию ММП-9 в биоптатах миокарда левого желудочка. Во второй группе исследовали концентрацию ММП-9 в плазме крови.

Полученные результаты. Проанализировав данные первого исследования, в раннем послеоперационном периоде, мы показали**,** что пара - коллаген 4 типа – ММП-9, из интраоперационных биоптатов, с высокой достоверностью **(p=0,001)** может использоваться в качестве предиктора неблагоприятных прогнозов после хирургического ремоделирования миокарда.

При анализе показателей ММП-9 из крови через 5 лет, была показана отрицательная динамика, в виде высокой концентрации ММП-9 в плазме, вероятнее всего связанная с продолжающимися ишемическими изменениями в миокарде, несмотря на реваскуляризацию миокарда, и соответственно прогрессированию ХСН. В этой связи, ММП-9 из плазмы, может использоваться как надежный маркер неблагоприятных исходов у данной категории пациентов.

Вместе с тем, анализируя ММП-9 у пациентов из второго исследования до операции, и в раннем послеоперационном периоде, мы показали статистически **(p=0,002)** достоверное снижение концентрации ММП-9, что на прямую свидетельствует о пользе реваскуляризации миокарда.

Заключение. Представленные результаты демонстрируют определенные успехи, достигнутые в поиске предиктора неблагоприятных событий после реваскуляризации миокарда, в сочетании с хирургическим ремоделированием миокарда. ММП-9 может быть использована в качестве маркера прогрессирования ХСН.

Ключевые слова: аневризма левого желудочка, матриксная металлопротеиназа 9, хроническая сердечная недостаточность, атеросклероз

Article

MMP – 9 - IS A POTENTIAL PROGNOSTIC MARKER OF LEFT VENTRICULAR REMODELING IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Abstract. We sought to find out whether it is possible to use the concentration level of matrix metalloproteinase-9 in myocardial biopsies and blood plasma in patients with coronary artery disease complicated by left ventricular aneurysm as a prognostic marker in order to determine the optimal treatment tactics.

Materials and methods. This article demonstrates two studies on the prognostic value of MMP-9 in patients with multivessel coronary artery disease and left ventricular aneurysm. All patients underwent surgical reconstruction of the left ventricle with coronary artery bypass grafting. The patients were divided into two groups. In the first group, the concentration of MMP-9 in biopsies of the left ventricular myocardium was studied. In the second group, the concentration of MMP-9 in blood plasma was studied.

The results obtained. After analyzing the data of the first study, in the early postoperative period, we showed that para-collagen type 4 – MMP-9, from intraoperative biopsies, with high reliability (p=0.001) can be used as a predictor of unfavorable prognoses after surgical remodeling of the myocardium.

When analyzing the indicators of MMP-9 from the blood after 5 years, negative dynamics was shown, in the form of a high concentration of MMP-9 in plasma, most likely associated with ongoing ischemic changes in the myocardium, despite myocardial revascularization, and, accordingly, the progression of CHF. In this regard, plasma MMP-9 can be used as a reliable marker of adverse outcomes in this category of patients.

At the same time, analyzing MMP-9 in patients from the second study before surgery and in the early postoperative period, we showed statistically (p=0.002) a significant decrease in the concentration of MMP-9, which directly indicates the benefits of myocardial revascularization.

Conclusion. The presented results demonstrate certain successes achieved in the search for a predictor of adverse events after myocardial revascularization, in combination with surgical remodeling of the myocardium. MMP-9 can be used as a marker of CHF progression.

Keywords: left ventricular aneurysm, matrix metalloproteinase 9, chronic heart failure, atherosclerosis

Введение

Рост заболеваемости и смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний является одним из важных факторов формирования неблагоприятной демографической ситуации во всем мире. Общество несет значительные людские потери и экономический ущерб. По прогнозам экспертов, смертность от болезней системы кровообращения будет возрастать, что не в последнюю очередь связано с постепенным увеличением продолжительности жизни [1].

На протяжении последних лет ИБС продолжает оставаться одной из основных патологий в структуре болезней системы кровообращения в экономически развитых странах и занимать ведущие позиции среди причин смертности населения. Одним из самых грозных осложнений ИБС является ОИМ с формированием хронической аневризмы левого желудочка, которая в свою очередь приводит к развитию ХСН в исходе ремоделирования ЛЖ. Хирургическая реконструкция левого желудочка является основным методом лечения постинфарктных аневризм ЛЖ [2].

Одной из основных причин прогрессирования ХСН в отдаленном периоде является развитие мелкоочагового фиброза во внеклеточном матриксе, по большому счету происходит замещение поврежденных кардиомиоцитов рубцовой тканью. Ряд исследований демонстрируют, что, чем больше площадь постинфарктного ремоделирования, тем тяжелее клиника сердечной недостаточности, и тем выше риск развития острой сердечной недостаточности после реконструкции ЛЖ [3].

На сегодняшний день недостаточно освещены вопросы предикторов неблагоприятных исходов и факторы риска прогрессирования ХСН.

В этой связи становится актуальным выявление предикторов прогрессирования ремоделирования ЛЖ в отдаленном периоде после его хирургической реконструкции, приводящие к рецидиву хронической сердечной недостаточности.

Материал и методы

Данное исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменным добровольным информированным согласием всех пациентов. Исследование было одобрено этическим комитетом Московского областного научно-исследовательского клинического института № 6 от 14.07.2017.

В исследование принимали участие 28 пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий и аневризмой левого желудочка (АЛЖ). При этом они были разделены на две группы. В первое исследование вошли 18 пациентов, прооперированных 5 лет назад

по поводу хирургической реваскуляризации миокарда и хирургической реконструкции ЛЖ. Второе исследование составили 10 пациентов с ИБС, осложненной АЛЖ, которым была запланирована и выполнена хирургическая реконструкция ЛЖ с аортокоронарным шунтированием. Обе группы были подобраны со схожими клиническим диагнозам, возрастом, сопутствующей патологией, методами хирургического лечения.

Критериями включения пациентов в основную группу были: наличие гемодинамически значимых стенозов магистральных коронарных артерий, подтвержденных с помощью ангиографии, наличие аневризмы ЛЖ, планируемая операция - хирургическая реваскуляризация миокарда в сочетании с реконструкцией ЛЖ, возраст 45-65 лет, наличие информированного согласия. Критерии исключения: острый инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность III-IV функционального класса, онкологические заболевания, заболевания крови. Контрольную группу составили 5 здоровых добровольцев в возрасте 45-60 лет. Критериями включениями данной когорты являлись: отсутствие сердечно-сосудистой патологии, подтвержденной ангиографией, заболеваний крови, онкологических заболеваний, прием наркотических препаратов. В Таблице 1 представлены клинические данные пациентов.

Таблица 1. Клинические данные пациентов

Показатели	Исл. 1. Наблюдение спустя 5 лет после операции		Исл. 2. Наблюдение до и после оперативного лечения.	
	До операции	В отдаленном периоде	До операции	В раннем послеоперационном периоде
Средний возраст, лет	56,1±6,8	61,5±4,1	57,2±5,8	57,2±5,8
Пол (М), %	100	100	100	100
Сахарный диабет, %	50	50	60	60
Стенокардия III–IV ФК, %	100	50	100	40
Сердечная недостаточность, I–II ФК,%	60	80	60	60
КДР ЛЖ, см	6,1±2,3	6,6±3,4	6,1±2,3	5,1±3,4
КДО ЛЖ (Simpson), мл	206,0±43,1	244,8±58,2	216,0±43,1	157,8±58,2

ФВ (Theiholz), %	51,3±18,3	44,2±6,7	51,3±18,3	54,2±6,7
ФВ (Simpson), %	41,7±7,2	32,8±5,2	41,7±7,2	45,8±5,2
Тромб ЛЖ, (ед)	8	-	3	-
Давление в легочной артерии, мм рт. ст.	36,2±5,4	22,3±14,6	37,2±6,6	21,3±10,6
Количество дистальных анастомозов	3,2	-	2,5	-

ФК-функциональный класс, КДР ЛЖ-конечно-диастолический размер левого желудочка, ФВ-фракция выброса, КДО Лж-конечно-диастолически объем левого желудочка

Пациенты из первого исследования после операции находились под постоянным наблюдением, регулярно проводился инструментальный и лабораторный контроль: ЭхоКГ, МРТ сердца с контрастированием, ЭКГ, стандартные лабораторные исследования.

Во время хирургического лечения в первом исследовании был выполнен интраоперационный забор биоптата из зон нормо- и гипокинеза для патоморфологической оценки содержания ММП-9 и коллагена 4-го типа.

В отдаленном послеоперационном периоде через 5 лет был выполнен анализ крови на ММП-9.

Пациентам из второго исследования было выполнено хирургическое ремоделирование миокарда в сочетании с хирургической реваскуляризацией. До и после операции был выполнен анализ крови на ММП-9.

Методы

Для определения количества циркулирующей в крови пациентов ММП-9 использовали коммерческие наборы двух разных компаний: RnD Systems, Inc. (Human MMP-9 Immunoassay Cat.# DMP900) и ThermoFisher scientific (Human MMP9 ELISA Kit Cat.# BMS2016-2). Кровь пациентов собирали в вакуумные пробирки Vacuette с литий-гепарином, центрифугировали для получения плазмы в течение 15 мин при 1000g. Отобранную плазму повторно центрифугировали при 10000 g в холодном роторе в течение 10 мин для удаления тромбоцитов. При проведении иммуноферментного анализа с помощью набора RnD плазму пациентов разводили в 40 раз, в случае набора ThermoFisher scientific – в 25 раз. Концентрацию ММП-9 вычисляли по стандартным калибровочным кривым в соответствии с рекомендациями производителей наборов.

Морфологическое исследование. Биоптаты миокарда маркировались в соответствии с их локализацией в ЛЖ и направлялись на патоморфологическое исследование. Биопсийный

материал, подлежащий исследованию, фиксировали в 10% нейтральном (забуференном) формалине. После вырезки фрагменты ткани обрабатывались в гистопроцессоре Leica TP1020 (LeicaBioSystems, Германия) по стандартному протоколу, после чего производилась заливка в парафиновые блоки. Гистологические срезы толщиной 2-3 мкм получали при помощи микротома Leica RM2245 (LeicaBioSystems, Германия).

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования серийные срезы толщиной 2-3 мкм наносили на предметные стекла с адгезивным покрытием, реакцию проводили ручным методом. Для ИГХ исследования коллагена IV типа и матриксной металлопротеиназы 9 (ММП-9) применяли антитела к коллагену IV типа (Cell Margue, США, моноклональные мышиные антитела, клон CIV22) и ММП-9 типа (Epitomics, моноклональные кроличьи антитела, клон EP 127, США).

Восстановление антигенности для коллагена IV типа проводили по стандартному протоколу в буфере pH 9.0 (Trilogy) по 20 минут при 97°C в модуле PTModule (ThermoScientific, Великобритания), а для MMP-9 в буфере pH 6.0 (Declere) по 20 мин при 95° C в модуле PT Module (ThermoScientific, Великобритания).

ИГХ реакцию с ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов (КМЦ) оценивали полуколичественным методом по ее интенсивности: отсутствие реакции – 0; слабая реакция, когда выявлялось небольшое количество мелкогранулярного материала в цитоплазме КМЦ - 1+; умеренно выраженная реакция, когда в цитоплазме большинства КМЦ выявлялись преимущественно гранулы средних, реже крупных размеров - 2+, интенсивная реакция, когда в большинстве КБЦ выявлялось большое число гранул крупных размеров - 3+. ИГХ реакцию с коллагеном IV типа оценивали по особенностям окрашивания базальных мембран (БМ) КМЦ: полное мембранное окрашивание БМ всех КМЦ, по типу «сетки» – 3+, неполное (частичное) окрашивание БМ большинства КМЦ – 2+, слабо выраженное, в виде небольших фрагментов БМ на отдельных КМЦ – 1+, полное отсутствие окрашивания на всех КМЦ – 0.

Результаты

Пациенты из первого исследования после хирургического лечения были благополучно выписаны из клиники под дальнейшее наблюдение.

Была изучена экспрессия коллагена IV типа и ММП-9 в участках миокарда из зон нормокинеза и гипокинеза. Нами было показано, что в участках миокарда из зон гипокинеза в БМ большинства КМЦ полностью исчезал каркас, образованный коллагеном IV типа, или он был фрагментарным. Напротив, в цитоплазме КМЦ происходило интенсивное накопление ММП-9–позитивных гранул, которых было тем больше, чем сильнее было

разрушение коллагена IV типа БМ (Рис.1). При этом в норме и в зонах нормокинеза в КМЦ был отмечен четко выраженный непрерывный коллагеновый «каркас» в виде «сот» вокруг КМЦ (Рис.2).

Обильные крупногранулярные скопления ММП-9 обычно выявлялись в зонах гипокинеза, где на КМЦ практически полностью отсутствовали БМ из коллагена IV типа (Рис.3). В то же время в зонах нормокинеза, экспрессия ММП-9 в цитоплазме подавляющего числа КМЦ вообще не выявлялась, как в это наблюдалось норме (Рис.4), или в отдельных клетках выявлялись только очень мелкие пылевидные скопления гранул этого энзима.

При определении уровня ММП-9 в плазме крови пациентов через 5 лет после операции были получены данные, которые приводятся в таблице 2. По результатам 5-летнего наблюдения и анализа отдаленных результатов лечения, пациентов можно разделить на 2 группы: 1 группа -10 пациентов с отрицательной динамикой, у которых концентрация ММП-9 в среднем составила 240 нг\мл; 2 группа - 8 пациентов со стабилизацией процесса, у которых концентрация ММП-9 составила в среднем составила 128нг\мл (Таблица 2). Для сравнения в контрольной группе, у пациентов без признаков ХСН, концентрация ММП-9 в плазме крови в среднем составила 74 нг\мл.

Таблица 2. Клинико-морфологическая характеристика и отдаленные результаты лечения пациентов с ишемической болезнью сердца

Пациенты (№)	Экспрессия ММП9 в зоне гипокинеза	Экспрессия коллагена 4 типа в БМ в зоне нормокинеза	Отдаленный результат (через 5 лет)	Концентрация ММП-9 в сыворотке крови через 5 лет после операции (p1-2=0,0287)
1 группа, n=10	2+/3+ (обильные скопления гранул крупных и средних размеров)	0-1+ (отсутствует, единичные фрагменты БМ)	Отрицательная динамика в виде снижения фракции выброса, расширения полостей сердца	240 нг\мл
2 группа, n=8	0-1+ (гранулы отсутствуют или имеются в виде пылевидных скоплений в отдельных клетка)	2-3+ (БМ сохранена полностью или частично на большинстве КМЦ)	Стабильное п\о течение, сохранная фракция выброса, незначительное увеличение полостей сердца	128 нг\мл.

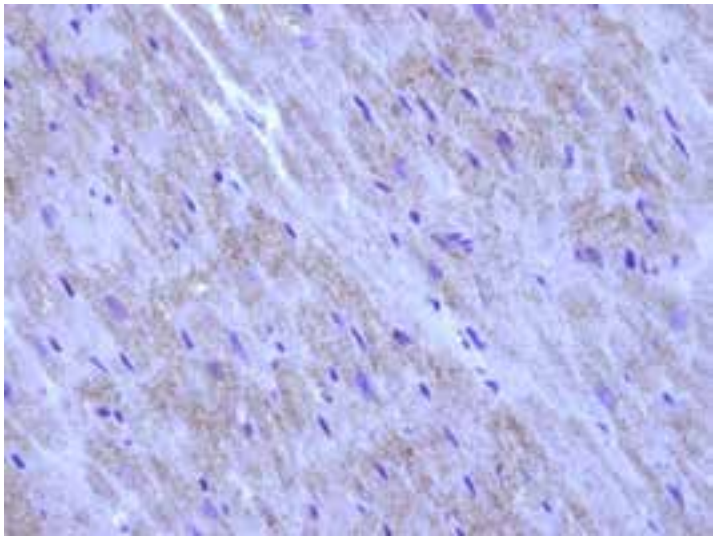


Рис.1 Ткань сердечной мышцы при аневризме левого желудочка. Крупногранулярные скопления ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов в зонах, где отсутствовали БМ и не формировался каркас из коллагена IV типа

Fig. 1 Cardiac muscle tissue in the left ventricle. Coarse-granular accumulations of MMP9 in the cytoplasm of cardiomyocytes in the areas where there were no BMs and no scaffold was formed from type IV collagen

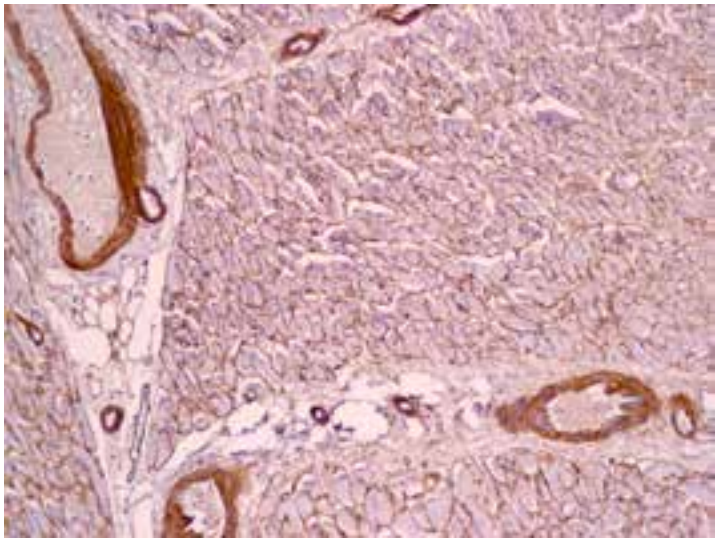


Рис.2. Зона нормокинеза. Экспрессия коллагена IV типа в виде сплошной четко окрашенной «сетки» или сот на базальной мембране кардиомиоцитов, а также в стенках сосудов.

Fig. 2. Zone of normokinesis. Type IV collagen expression as a continuous clearly colored “net” or “honeycomb” on the basement membrane of cardiomyocytes, as well as in blood vessel walls.

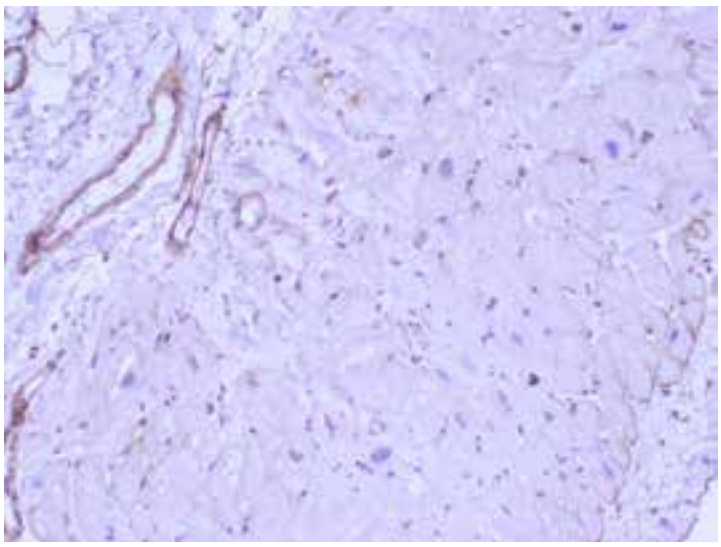


Рис.3. Зона гипокинеза. Экспрессия коллагена IV типа в стенках сосудов; отсутствие сплошной коллагеновой сетки или фрагментов коллагена IV типа в отдельных участках базальных мембран кардиомиоцитов.

Fig. 3. Zone of hypokinesis. Type IV collagen expression in vessel walls; no continuous collagen network or fragments of type IV collagen in certain areas of basal membranes of cardiomyocytes.

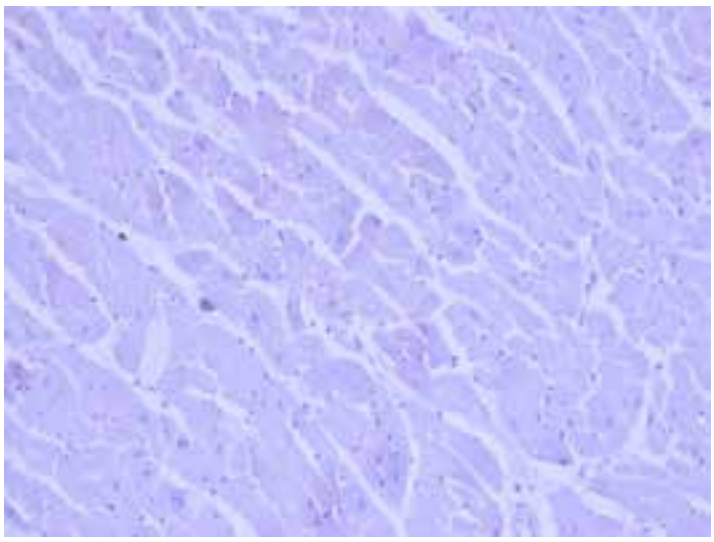


Рис. 4. Здоровый миокард. Отсутствие экспрессии ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов, ×250. A, B – ИГХ окрашивание с антителами к коллагену IV типа, ×250. C, D – ИГХ окрашивание с антителами к ММП-9

Fig. 4. Healthy myocardium. No MMP9 expression in the cytoplasm of cardiomyocytes, ×250 A, B – IHC assay with antibodies to type IV collagen, ×250. C, D – IHC assay with antibodies to MMP9

Второе исследование заключалось в сравнении концентрации ММП-9 в дооперационном и раннем послеоперационном периодах.

Пациентам был выполнен полный объем реваскуляризации миокарда в сочетании с хирургическим ремоделированием ЛЖ.

Анализ эхокардиографических показателей враннем послеоперационном периоде показал, что реваскуляризация миокарда способствовала значительному увеличению показателей насосной функции ЛЖ. Данные представлены в Таблице 3.

Вместе с тем у пациентов исчезала клиника стенокардии напряжения и уменьшилась выраженность сердечной недостаточности.

Таблица 3. Данные ЭХОКГ до и после операции

	2 группа (n = 10)	
Показатели ЭХОКГ	**до операции**	**через 7 дней после операции**
КДР ЛЖ, см	6,6 ± 3,4	5,4 ± 2,2
КДО ЛЖ (S), мл	264,8 ± 58,2	167,1 ± 44,9
ФВ (Theiholz), %	44,2 ± 6,7	49,3 ± 10,5
ФВ (Simpson), %	32,8 ± 5,2	41,8 ± 5,5

Был выполнен анализ ММР-9 до и после операции, данные представлены в рис.5

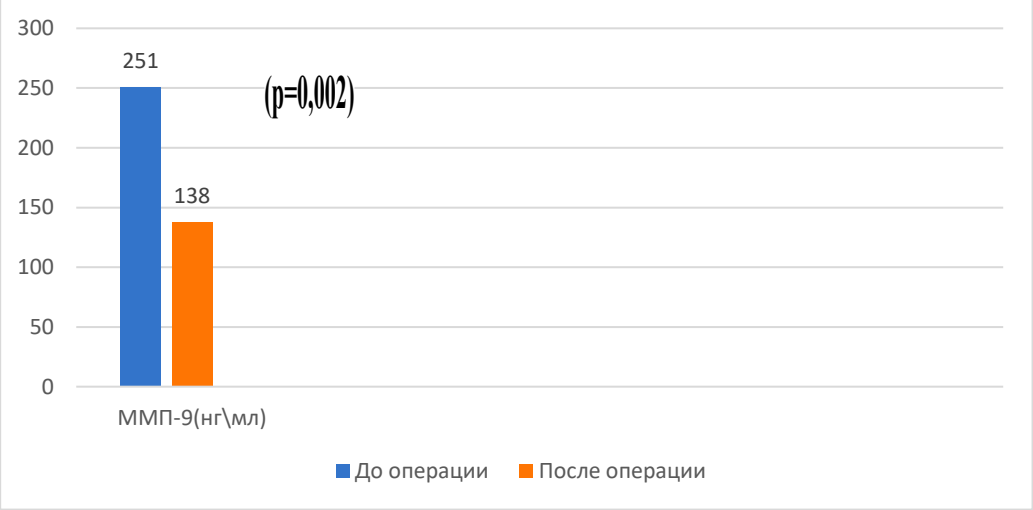


Рис. 5. ММП-9 до и после операции

Fig. 5 MMP-9 before and after surgery.

Отмечено статистически **(p=0,002)** достоверное снижение ММР-9 в плазме крови в раннем послеоперационном периоде.

Обсуждение полученных результатов

Несмотря на удовлетворительные гемодинамические показатели и качество жизни после хирургического лечения, в течение длительного периода времени процесс ремоделирования приобретает патологически необратимый характер за счет прогрессирования фиброза [4]. Это приводит к дальнейшей дилатации полости левого желудочка, и, как следствие, усугублению течения хронической сердечной недостаточности. Учитывая данный факт становится актуальным выявление предикторов прогрессирования ремоделирования ЛЖ в отдаленном периоде после его хирургической реконструкции, приводящие к рецидиву хронической сердечной недостаточности [5]. Это обуславливает необходимость более пристального наблюдения за данной категорией пациентов, с целью не допустить необратимых последствий хронической сердечной недостаточности и своевременно выявить показания для рассмотрения вопроса о трансплантации сердца [6,7].

В последние годы ММП широко изучаются в качестве маркеров для прогнозирования ремоделирования ЛЖ после ИМ и как следствие, развития сердечной недостаточности [8-12].

ММП - 9 или желатиназа В, одна из наиболее широко изученных протеаз, регулирующих патологические процессы ремоделирования. ММП-9 играет главную роль в деградации ВКМ в широком спектре физиологических и патофизиологических процессов, которые включают ремоделирование ткани. ММП - 9 секретируется большим количеством клеток, включая кардиомиоциты, эндотелиальные клетки, нейтрофилы, макрофаги и фибробласты [13-18]. Blankenberg et al. первыми стали использовать ММП-9 в качестве нового прогностического биомаркера развития дисфункции ЛЖ и поздней выживаемости. В исследовании 1127 пациентов с подтвержденным атеросклеротическим поражением коронарных артерий они изучали исходные уровни ММП - 9 в плазме. Средний период наблюдения составил 4,1 года. Концентрации ММП - 9 была значительно выше среди пациентов, перенесших сердечно-сосудистые события со смертельным исходом, чем среди тех, у кого их не было (62,2 против 47,8 нг/мл; $P<0,0001$). Авторы пришли к выводам, что к**онцентрация** ММП - 9 в плазме может быть использована в качестве нового предиктора сердечно-сосудистой смертности у пациентов с ишемической болезнью сердца [19].

Squire et al. продемонстрировали, что увеличение ММР-9 взаимосвязано с большими объемами ЛЖ и дисфункцией ЛЖ после ИМ. У 60 пациентов с острым инфарктом миокарда оценивали количественный уровень ММП-9 в течении 5 дней после ИМ. Авторы пришли к выводу, что ММП-9 могут дать представление о ремоделировании миокарда после ИМ [20].

Проанализировав данные первого исследования, в раннем послеоперационном периоде, мы показали**,** что пара коллаген 4 типа – ММП-9, из интраоперационных биоптатов, с высокой достоверностью **(p=0,001)** может использоваться в качестве предиктора неблагоприятных прогнозов после хирургического ремоделирования миокарда [21].

При анализе показателей ММП-9 из крови через 5 лет, была показана отрицательная динамика, в виде высокой концентрации ММП-9 в плазме, вероятнее всего связанная с продолжающимися ишемическими изменениями в миокарде, несмотря на реваскуляризацию миокарда, и соответственно прогрессированию ХСН. В этой связи, ММП-9 из плазмы, может использоваться как надежный маркер неблагоприятных исходов у данной категории пациентов.

Вместе с тем, анализируя ММП-9 у **пациентов из второго исследования** до операции, и в раннем послеоперационном периоде, мы показали статистически **(p=0,002)** достоверное снижение ММП-9, что на прямую свидетельствует о пользе реваскуляризации миокарда. *В дальнейшем планируется отслеживать динамику концентрации ММП-9.*

Выводы

Представленные результаты демонстрируют определенные успехи, достигнутые в поиске предиктора неблагоприятных событий после реваскуляризации миокарда, в сочетании с хирургическим ремоделированием миокарда. В перспективе, ММП-9 может быть использована и на догоспитальном этапе, при отборе кандидатов на хирургическую реваскуляризацию. При повышенном содержании, ***выше определенных значений***, пациенту может быть отказано в оперативном лечении, учитывая неблагоприятные исходы, и предложен более щадящий персонифицированный подход.

ЛИТЕРАТУРА

References

1. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. Heart. 2007 Sep;93(9):1137-46. doi: 10.1136/hrt.2003.025270. PMID: 17699180; PMCID: PMC1955040.
2. Sahle BW, Owen AJ, Chin KL, Reid CM. Risk Prediction Models for Incident Heart Failure: A Systematic Review of Methodology and Model Performance. J Card Fail. 2017 Sep;23(9):680-687. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.03.005. Epub 2017 Mar 21. PMID: 28336380.

3. Jha SR, Ha HS, Hickman LD, Hannu M, Davidson PM, Macdonald PS, Newton PJ. Frailty in advanced heart failure: a systematic review. Heart Fail Rev. 2015 Sep;20(5):553-60. doi: 10.1007/s10741-015-9493-8. PMID: 25982016.
4. Ferraris VA. Commentary: Recovering ischemic myocardiumhibernation, autophagy, preconditioning, mitochondria, stem cells, and more. J Thorac Cardiovasc Surg. 2021;162(1):e17–e18. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2020.01.002.
5. Benz DC, von Dahlen AP, Huang W, Messerli M, von Felten E, Benetos G et al. No differences in rest myocardial blood flow in stunned and hibernating myocardium: Insights into the pathophysiology of ischemic cardiomyopathy. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2019;46(11):2322–8. DOI: 10.1007/s00259-019- 04440-2.
6. Acar E, Aksu A, Akkaya G, Kaya GÇ. Prevalence and localization of hibernating myocardium among patients with left ventricular dysfunction. Curr Med Imaging Rev. 2019;15(9):884–9. DOI: 10. 2174/1573405615666190701110620.
7. Kloner RA. Stunned and hibernating myocardium: Where are we nearly 4 decades later? J Am Heart Assoc. 2020;9(3):e015502. DOI: 10.1161/JAHA.119.015502.
8. Guizani I, Zidi W, Zayani Y, Nesrine F, Douik H, Sanhaji H, Mourali MS, Feki M, Allal-Elasmi M. Matrix metalloproteinase 3 and 9 as genetic biomarkers for the occurrence of cardiovascular complications in coronary artery disease: a prospective cohort study. Mol Biol Rep. 2022 Oct;49(10):9171-9179. doi: 10.1007/s11033-022-07742-1. Epub 2022 Aug 12. PMID: 35960412.
9. Ezhov M, Safarova M, Afanasieva O, Mitroshkin M, Matchin Y, Pokrovsky S. Matrix Metalloproteinase 9 as a Predictor of Coronary Atherosclerotic Plaque Instability in Stable Coronary Heart Disease Patients with Elevated Lipoprotein(a) Levels. Biomolecules. 2019 Mar 29;9(4):129. doi: 10.3390/biom9040129. PMID: 30934954; PMCID: PMC6523150.
10. Konstantino Y, Nguyen TT, Wolk R, Aiello RJ, Terra SG, Fryburg DA. Potential implications of matrix metalloproteinase-9 in assessment and treatment of coronary artery disease. Biomarkers. 2009 Mar;14(2):118-29. doi: 10.1080/13547500902765140. PMID: 19330590
11. Li Y. Correlation analysis of levels of adiponectin and matrix metalloproteinase-9 with stability of coronary heart disease. Technol Health Care. 2015;23 Suppl 1:S95-8. doi: 10.3233/thc-150937. PMID: 26410336.
12. Kremastiotis G, Handa I, Jackson C, George S, Johnson J. Disparate effects of MMP and TIMP modulation on coronary atherosclerosis and associated myocardial fibrosis. Sci Rep. 2021 Nov 30;11(1):23081. doi: 10.1038/s41598-021-02508-4. PMID: 34848763; PMCID: PMC8632906.
13. Zeng B, Prasan A, Fung KC, Solanki V, Bruce D, Freedman SB, Brieger D. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease. Intern Med J. 2005 Jun;35(6):331-5. doi: 10.1111/j.1445-5994.2005.00822.x. PMID: 15892761.
14. Brunner S, Kim JO, Methe H. Relation of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in peripheral circulating CD14+ monocytes to progression of coronary

artery disease. Am J Cardiol. 2010 Feb 15;105(4):429-34. doi: 10.1016/j.amjcard.2009.10.013. Epub 2010 Jan 5. PMID: 20152234.

15. Xu X, Wang L, Xu C, Zhang P, Yong F, Liu H, Wang J, Shi Y. Variations in matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 genes and the risk of acute coronary syndrome and coronary artery disease in the Chinese Han population. Coron Artery Dis. 2013 Jun;24(4):259-65. doi: 10.1097/MCA.0b013e32835ea3af. PMID: 23377317.
16. Kwon SH, Ju SA, Kang JH, Kim CS, Yoo HM, Yu R. Chemokine Lkn-1/CCL15 enhances matrix metalloproteinase-9 release from human macrophages and macrophage-derived foam cells. Nutr Res Pract. 2008 Summer;2(2):134-7. doi: 10.4162/nrp.2008.2.2.134. Epub 2008 Jun 30. PMID: 20126378; PMCID: PMC2815325.
17. Gu C, Wang F, Hou Z, Lv B, Wang Y, Cong X, Chen X. Sex-related differences in serum matrix metalloproteinase-9 screening non-calcified and mixed coronary atherosclerotic plaques in outpatients with chest pain. Heart Vessels. 2017 Dec;32(12):1424-1431. doi: 10.1007/s00380-017-1014-3. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28726114.
18. Konstantino Y, Wolk R, Terra SG, Nguyen TT, Fryburg DA. Non-traditional biomarkers of atherosclerosis in stable and unstable coronary artery disease, do they differ? Acute Card Care. 2007;9(4):197-206. doi: 10.1080/17482940701474486. PMID: 17924231.
19. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. Circulation.2003;107:1579–1585. DOI:10.1161/01.CIR.0000058700.41738.12
20. Squire IB, Evans J, Ng LL, Loftus IM, Thompson MM. Plasma mmp-9 and mmp-2 following acute myocardial infarction in man: Correlation with echocardiograph-ic and neurohumoral parameters of left ventricular dysfunction. Journal of cardiac failure. 2004;10:328–333. https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2003.11.003
21. Popov M.A., Shumakov D.V., Gurevich L.E., Fedorov D.N., Zybin D.I., Ashevskaya V.E., Korosteleva P.A., Tyurina V.M. The evaluation of hibernating myocardium function. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):59–67 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.59-67.

ОЦЕНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ПОРФИРИЕЙ

Е.В. Саляхова

Научный руководитель: Р.Г. Сайфутдинов

КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, кафедра госпитальной и поликлинической терапии

Острая печеночная порфирия — это орфанное заболевание, обусловленное недостаточностью продукции фермента биосинтеза гема – порфобилиногендезаминазы (ПБГД), характеризующееся острыми приступами, приводящие к хроническому течению с последующей инвалидизацией пациента [1].

Эпидемиология

Распространенность ОПП в странах Западной Европы составляет 1-10:100000 населения, тогда как носительство мутантного гена может быть существенно выше (1–2 на 10000 человек), т.к. пенетрантность заболевания варьирует от 1 до 60%. Распространённость ОП в Северной Европе 1: 100000 [2, 3]

По данным ГНЦ РАМН на период 2007г. информация о пациентах, страдающих ОПП из 89 субъектов РФ представлены: Республикой Татарстан, Республикой Чувашия, а также Ярославской, Самарской, Свердловской и Тверской областями [4]

За последние годы достигнут успех в диагностике данной патологии, и количество выявленных пациентов с ОПП неуклонно растет [5]. Нами проанализирована статистика изучая журнал «Проблемы стандартизации в здравоохранении» выявляемости ОПП с 2013 по 2018 годы, как видно из рисунка №1, имеется линейная зависимость абсолютного прироста числа больных, которая составила 163% [6,7]

Рис.1

Это связано с активной работой ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр гематологии (НМИЦГ) МЗ РФ, предложивший алгоритм выявления больных с ОПП [8] и, приложивший много усилий для внедрения Клинических рекомендаций по данному заболеванию [8]. В настоящий время ОПП выставляют после генетического исследования [9]. Оно позволяет не только поставить диагноз ОПП, но и провести дифференциальную диагностику между порфириями [9].

В Республике Татарстан на сегодняшний день зарегистрировано 8 пациентов, женского пола, страдающих ОПП. Их возраст варьирует от 20 до 63 лет. В Казани проживают 6 пациентов. В районах РТ: Ютазинский (Юго-восточный регион) - 1, Дрожжановский (Приволжский регион) - 1. Из анамнеза пациенты отмечали с детства такие жалобы, как боль в животе, немотивированная общая слабость, боли в эпигастрии и правом подреберье, пожелтение кожных покровов и склер, приступы головных болей и головокружения, периодические повышения АД, тошноту, рвоту и снижение аппетита, по поводу которых были госпитализированы многократно в различные клиники и выставлялся ошибочный диагноз: кишечная колика, СРК, гастрит, острый аппендицит, острый панкреатит и другие заболевания.

После верификации диагноза ОПП в ГНЦ РАН, пациенты госпитализировались в различные учреждения МЗ РТ, где в связи с рецидивами острой атаки, на фоне триггеров (стресс, прием ЛС, беременность, mensis), получали лечение (аргинатом гема, глюкозой, УДХК, симптоматической терапией). Данные о впервые выявленном редком заболевании были внесены

в реестр орфанных заболеваний. В лабораторных исследованиях были значительно повышены АЛТ и АСТ, ПБГ, δ-АЛК. Инвалидность 1 группы имеет 1 пациент, 2 группы – 2, 3 группы – 3 пациента. ОПП - заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования с неполной пенетрантностью. ОПП редко проявляется с момента рождения. Для нее характерна частичная недостаточность ферментной активности ПБГД [10], и в физиологических условиях ее хватает для поддержания нормального гемостаза. Генетический дефект находится в «спящем режиме» и проявляется после воздействия запускающего механизма (триггера). Этот момент надо учитывать: для профилактики обострения у пациента с доказанным ОПП, для отсрочки проявления ОПП у родственников с найденным генетическим дефектом. Поэтому для развития острого приступа ОПП необходимо не только наличие мутации генов, но и воздействие экзогенных или эндогенных индуцирующих факторов (триггеров).

Нами, в результате анализа отечественной и зарубежной литературы предложены триггеры ОПП.

Основными триггерами среди наших пациентов были следующие:

- Провоцируют приступы более 100 лекарственных препаратов (гормоны, НПВП, барбитураты и другие).
- Этанол (ингибитор активности основных ферментов системы биосинтеза гема).
- Инсоляция.
- Гипокалорийная низкоуглеводная диета.
- Бактериальные и вирусные инфекции (HCV, HCV, CMV).
- Менструация/Беременность/Менопауза.
- Хирургические вмешательства.

Патогенез

Триггеры повышают активность δ-аминолевулинат синтазы, приводя к избыточному накоплению δ-АЛК и порфобилиногена (ПБГ) [11] Они являются токсичными и запускают развитие острого приступа порфирии. Механизм токсического эффекта обусловлен: прямым нейротоксическим эффектом высокой концентрации δ-АЛК, и опосредованным эффектом δ-АЛК (из-за структурного сходства с тормозным нейротрансмиттером – ГАМК), цитотоксическим эффектом свободных радикалов вследствие их повышенной продукции, вероятным дефицитом гем-содержащих ферментов в нервной ткани.

Энтерогепатический путь циркуляции δ-АЛК и ПБГ

Избыточное содержание в гепатоците δ-АЛК и ПБГ повышает их концентрацию в крови, повреждая ткани и органы. Как видно из рисунка 2, далее часть δ-АЛК и ПБГ попадает в билиарную систему, в желчный пузырь и в кишечник. В кишечник, δ-АЛК и ПБГ, всасываются в воротную вену и возвращаются в печень, оказывая на нее токсическое воздействие. δ-АЛК и ПБГ, вернувшиеся в печень, опять попадают в кровяное русло – замыкая тем самым их энтерогепатический путь циркуляции. Прерывание этого пути возможно снизит токсическое влияние δ-АЛК и ПБГ на печень и весь организм в целом.

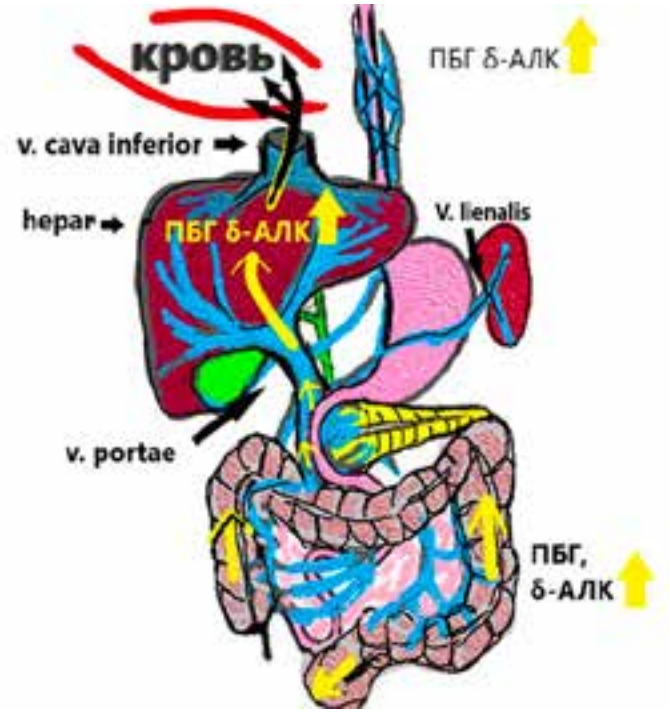


Рис. 2

Клиника ОПП

ОПП называют «великим имитатором». Динамика развития симптомов может иметь различную последовательность и маскировать ОПП под другую патологию. Первый приступ ОПП может развиться в возрасте старше 14-16 лет [12] Заболевание редко проявляется до пубертатного возраста. Более 80% составляют женщины (возраст от 11-16 до 45 лет). Менструальный цикл является главным эндогенным провоцирующим фактором. Атаки ОПП возможны у мужчин, но встречаются намного реже. Начало острое, реже подострое. Симптоматика достигает своего развития в течение 1-4 недель, но иногда фаза прогрессирования продолжается до 2-3 месяцев, в среднем 10 дней. Острые приступы не имеют спонтанного

обратного развития и могут быстро приводить к тяжелым осложнениям и летальному исходу (10%) [13].

Диагностика ОПП

В ее основе лежат сбор жалоб, анамнез в том числе наследственность, данные, о наличии триггеров, предшествующих атаке ОПП. Важным является исследование мочи на присутствие в ней избытка ПБГ [12]. При положительном результате теста с реактивом Эрлиха необходимо немедленно провести исследование мочи на содержание продуктов обмена гема количественным методом. В настоящий время ОПП выставляют после генетического исследования. Оно позволяет не только поставить диагноз ОПП, но и провести дифференциальную диагностику между порфириями.

Лечение

Полное излечение ОПП невозможно. Грамотная профилактика приступов ОПП позволит добиться многолетнего латентного течения болезни. Излечивающая терапия – ортоптическая трансплантация печени данных пациентов [14]. Цель лечения - предупреждение атак заболевания и развития необратимых изменений нервной системы.

Лечение ОПП основано на трех фундаментальных аспектах:

1. Исключение провоцирующих факторов (триггеров)
2. Купирование симптомов
3. Гемзаместительная терапия

Решение вопроса подбора лекарственной терапии при ОПП актуально не только в период лечения острого приступа болезни, основной целью которого является профилактика повторных атак, но и на амбулаторном этапе.

В ГНЦ РАН разработана собственная интернет-версия реестра опасных и безопасных для больных ОПП лекарственных препаратов. Размещена на сайте: http://porphyriadrugs.com

Причины низкой эффективности проводимого лечения

- Частые спонтанные обострения ОПП, имеющие большую вариабельность с промежутками от нескольких месяцев до нескольких лет.
- Не знание триггеров ОПП, являющихся потенциальными индукторами приступа ОПП.
- Неспецифические симптомы, приводящие к неточным диагнозам и ненужным хирургическим вмешательствам.
- Задержка постановки диагноза (в среднем на 15 лет).

- Позднее назначение патогенетической терапии.
- Проводимое, часто не адекватно тяжести состояния больного, лечение.
- Назначение и прием лекарственных препаратов, обладающих порфириногенным действием, приводящие к обострению или манифестации заболевания.

Пути решения проблемы

1. Выявление триггеров, запускающих данное генетическое повреждение.
2. Знание методов диагностики «предвестников» острой атаки ОПП.
3. Поиск лекарственных средств, способствующих предотвращению, или более легкому течению острой атаки ОПП.

Таким образом, основные цели достижения успеха в лечении пациентов с ОПП:

1. Знание триггеров позволит: избежать обострение заболевания, назначить соответствующее лечение и облегчить его течение, предупредить проявление данного заболевания у родственников.
2. Знание симптомов-предвестников позволит: вовремя купировать приступ, уменьшить его влияние на состояние пациента, облегчить течение в пост-приступном периоде.
3. Прерывание энтерогепатического пути циркуляции токсических веществ и улучшение детоксикационной функции печени облегчит течение заболевания.

Нами создан регистр больных с ОПП.

Проработана доступная отечественная и зарубежная литература анализ которой позволил нам предложить основные и второстепенные триггеры болезни и симптомы-предвестники приступа.

В Республике Татарстан при содействии МЗ РТ, для консультации, лечения и динамического наблюдения пациентов с острой печеночной порфирией, при ГАУЗ ГКБ №12 создан единый Центр для патронажа больных с ОПП.

Создана маршрутизация больных с ОПП в РТ.

В 2024 г. подана заявка «Поиск триггеров ОПП и симптомов-предвестников острой атаки и повышения эффективности терапии у пациентов с орфанным заболеванием (Е80.2): острой печеночной порфирией (ОПП)» на грант РНФ «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами». Заявка № 24-15-00350.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jericó D, Córdoba KM, Sampedro A, Jiang L, Joucla G, Cabanne C, Lanciego JL, Martini PGV, Berraondo P, Ávila MA, Fontanellas A. Recent Insights into the Pathogenesis of Acute Porphyria Attacks and Increasing Hepatic PBGD as an Etiological Treatment. Life (Basel). 2022 Nov 11;12(11):1858.

2. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению острых порфирий: Клинические рекомендации национального гематологического сообщества/ ред. совет: Пустовойт Я.С., Кравченко С.К., Р.Г.Шмаков, Савченко В.Г. - 2018. – 19 с.

3. Kaban A.P. Izuchenie obshchetoksicheskikh svoĭstv i pobochnogo deĭstviia polimetilsiloksana i immobilizovannogo na nem gentamitsina [Study of general toxic properties and side effects of polymethylsiloxane and gentamicin immobilized on it] / Kaban A.P., Keĭsevich, L. V., Samodumova, I. M., Znamenskiĭ, V. A., & Cherviak, P. I. // Antibiotiki i khimioterapiia. Antibiotics and chemotherapy. – 1988. - vol. 33,9. - P.666-710.

4. Карпова И.В. Острые порфирии: проблема первичной диагностики в России и странах СНГ/ Карпова И.В., Пустовайт Я.С., Лучинина Ю.А. и др. // Терапевт.архив. - 2007.- № 79(8). - С. 52- 57.

5. Карпова И.В. Острые порфирии: проблема первичной диагностики в России и странах СНГ/ Карпова И.В., Пустовайт Я.С., Лучинина Ю.А. и др. // Терапевт.архив. - 2007.- № 79(8). - С. 52- 57.

6. Соколов А.А., Александрова О.Ю., Комаров И.А. Проблемы оказания высокотехнологичной медицинской помощи пациентам, страдающим редкими заболеваниями// Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2019. №7-8.

7. Воробьев П.А. Редкие заболевания у взрослых // Проблемы стандартизации в здравоохранении. - 2016. - №3-4. - С.3-9.

8. Ohtani, Y., Yamaoka, M., Sawada, M., Miyazaki, Y., Miyazaki, R., Okayasu, I., &Yoshizawa, Y. (2000). Acute intermittent porphyria associated with transient elevation of transaminases during an acute attack. Internalmedicine (Tokyo, Japan), 39(1), 45–49. https://doi.org/10.2169/internalmedicine.39.45

9. Пшеничникова О.С., Гончарова М.В., Пустовойт Я.С., Карпова И.В., Сурин В.Л. Пилотное исследование генетической предрасположенности к клиническим проявлениям острой перемежающейся порфирии // Гематология и трансфузиология. 2019. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/pilotnoe-issledovanie-geneticheskoy-predraspolozhennosti-k-klinicheskim-proyavleniyam-ostroy-peremezhayuscheysya-porfirii (дата обращения: 09.05.2023).

10. Смагина И.В. Трудности диагностики поражения нервной системы при порфирии / Смагина И.В., Юрченко Ю.Н., Мерсиянова Л.В., Ельчанинова С.А., Ельчанинов Д.В. // Неврологический журнал. - 2016.-Т.21, №5. – С. 299-304.

11. Elder G. The incidence of inherited porphyrias in Europe. / Elder G., Harper, P., Badminton, M., Sandberg, S., & Deybach, J. C. // Journal of inherited metabolic disease. - 2013. - vol. 36, 5. – P. 849-857.- doi:10.1007/s10545-012-9544-4

12. Авдей Г.М. Острая перемежающаяся порфирия / Авдей Г.М., Кулеш С.Д., Хоперский П.Г., Орловская Т.Ю., Апуневич Д.Н. // Медицинские новости. – 2019. – №11. – С. 56–59.

13. Ramanujam V.S. Porphyria Diagnostics-Part 1: A Brief Overview of the Porphyrias. / Ramanujam V.S., Anderson K.E. // Current protocols in human genetics. - 2015. - vol. 86.- P.11-36. doi: 10.1002/0471142905.hg1720s86

14. Fontanellas A. Emerging therapies for acute intermittent porphyria / Fontanellas A., Ávila M.A., Berraondo P. // Expert reviews in molecular medicine.-2016.- vol. 18, 17.-P.3-4 doi: 10.1017 / em.2016.18

ОРТОСТАТИЧЕСКАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

В.В. Сергеев (Vladislav Valerievich Sergeev)

Актуальность: У пожилых людей часто наблюдаются ортостатические нарушения регуляции артериального давления, включая ортостатическую гипотензию (ОГ) и ортостатическую гипертензию (ОГТ). Связь между ОГ и, в меньшей степени, ОГТ с гериатрическими синдромами противоречива и малоисследована.

Цель: обобщить имеющиеся современные данные об определении, диагностике, патофизиологии ортостатической гипотензии (ОГ), а также выделить возрастные особенности патофизиологии ОГТ у пожилых людей.

Источники данных: Электронный сбор данных проводился по исследованиям и обзорам, которые были опубликованы в период с 2000 по 2022 год на русском и английском языках и содержали информацию, связанную с целью этой статьи.

Выводы: Ортостатическая гипертензия имеет значительную распространенность среди пожилых людей с гипертонической болезнью и еще более высокую распространенность среди лиц с неконтролируемой артериальной гипертензией. Все больше данных свидетельствует о том, что ортостатическая гипертензия также является формой предгипертензии, которая связана с повреждением органов и повышенным риском сердечно-сосудистых событий. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы продемонстрировать, является ли это состояние только маркером заболевания или одной из основных причин повреждения органов и сердечно-сосудистых событий, а также могут ли конкретные методы лечения снизить вариабельность артериального давления и сердечно-сосудистые события у пациентов с ортостатической гипертензией.

Ключевые слова: ортостатическая гипертензия; пожилые люди; артериальное давление, дисфункция, вегетативная нервная система, сердечно-сосудистые заболевания

Введение

Ортостатическая дисрегуляция артериального давления является распространенным заболеванием у пожилых людей, и ее частота увеличивается с возрастом. Распространенность ортостатической гипотензии (ОГ) составляет около 5% у взрослых, но возрастает до 30% у населения старшего возраста старше 65 лет и достигает 65% у очень старых пациентов при проведении систематических и повторных измерений [1-7]. Многие причины или механизмы, такие как дизавтономия, вторичная по отношению к сахарному диабету или болезни Паркинсона, обезвоживание или полимедикаментозное лечение, особенно антигипертензивными и психотропными препаратами, объясняют повышенную распространенность ОГ у пожилых

людей [6]. ОГ у пожилых людей следует рассматривать как плохой показатель здоровья. Следовательно, ОГ связана с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, такими как ишемический инсульт, ишемическая болезнь сердца и заболевания периферических сосудов, а также с сердечно-сосудистой смертностью и смертностью от всех причин [8-10]. Описана связь между ОГ и гериатрическими синдромами, такими как падения, недоедание и функциональная зависимость, или распространенными заболеваниями, такими как депрессия или нейрокогнитивные расстройства, хотя механизмы этих взаимосвязей все еще обсуждаются [10-14]. Например в [12] в группе из 510 пожилых людей ОГ была значимо связана с инвалидностью, смертностью и более высокими показателями госпитализации в зависимости от слабости пациентов.

Ортостатическая гипертензия (ОГТ), которая встречается так же часто, как и ОГ, менее изучена. Распространенность ОГТ оценивается в 2,4% у молодых людей, но колеблется от 4 до 28% у пожилых людей, особенно у людей с гипертонией или диабетом [2, 4, 7, 10, 15, 16]. ОГТ связана с повышенной сердечно-сосудистой смертностью, ишемической болезнью сердца и ишемическим инсультом [7-10]. Следовательно, в когорте жителей домов престарелых сердечно-сосудистая смертность у пациентов с ОГТ была аналогична таковой у пациентов с ОГ, около 25% через 2 года наблюдения, но значительно выше, чем у пациентов без ортостатической дисрегуляции артериального давления [10]. Более того, в некоторых исследованиях, проведенных среди «молодых» пожилых людей с небольшим количеством гериатрических синдромов или, наоборот, у очень слабых жителей домов престарелых, ОГТ непостоянно ассоциировалась со снижением когнитивных функций, слабостью или инвалидностью [10, 17]. Следовательно, имеется мало доказательств того, что гериатрические синдромы, которые представляют собой многофакторные состояния с плохим прогнозом, характеризующие старение людей, связаны с ортостатической дисрегуляцией артериального давления у пожилого населения.

В литературе отмечается, что хотя ОГ является недооцененным сердечно-сосудистым (СС) заболеванием, в некоторых исследованиях сообщается о более высокой распространенности ОГТ по сравнению с ОГ. Поскольку как патофизиология, так и прогностическая роль ОГТ остаются в значительной степени неясными, а также отсутствие рандомизированных данных, никаких конкретных рекомендаций по ведению ОГТ не разработано [18, 19].

Цель настоящего обзора – обобщить имеющиеся современные данные об определении, диагностике, патофизиологии ОГТ, а также выделить возрастные особенности ОГТ у пожилых людей.

Определение и диагностика ОГТ

Поскольку «официального» определения ОГТ не существует [19], большинство исследователей предложили определить ОГТ как повышение САД не менее чем на 20 мм рт. ст. после стояния [19]. Однако в недавних крупных исследованиях в соответствии с определением ОГ ортостатическое повышение ДАД не менее чем на 10 мм рт. ст. также включалось в определение ОГТ [17, 20]. Некоторые авторы определяют ОГТ как любое повышение АД от <140/90 мм рт. ст. в положении лежа до >140/90 мм рт. ст. в положении лежа на спине, а другие – как повышение только ДАД от <90 мм рт. ст. в положении лежа на спине. до >90 мм рт. ст. в вертикальном положении [21]. Было предложено также определить ОГТ по возрастающим изменениям САД на 10 мм рт. ст. или 5 мм рт. ст. [22]. Ортостатическая гипертензия обычно протекает бессимптомно [18], но могут возникать такие симптомы, как головокружение, предобморочное состояние, головная боль, учащенное сердцебиение, тошнота, потливость и редко обмороки [23].

Тестирование для диагностики ОГТ не отличается от ОГ, включая «активное стояние» (либо в клинике, либо дома у пациента), амбулаторное мониторирование артериального давления (СМАД) и тест на наклонном столе [18, 24]. При активном стоянии АД измеряется в положении пациента лежа на спине в течение не менее 5 минут с последующим последовательным измерением АД в течение 3 минут. Проведение того же теста на дому у пациента может устранить возможный эффект “белого халата”, который может привести к ложному диагнозу ОГТ при измерении АД в клинике. С другой стороны, измерение АД в домашних условиях может дать больше шансов выявить ранее не обнаруженную ОГТ [18]. Альтернативно можно использовать СМАД, которое может обеспечить дополнительные преимущества, включая оценку краткосрочной вариабельности АД [18, 24]. В случаях, когда клинические подозрения остаются, можно предложить тест на наклонном столе. Хотя существует несколько протоколов тильт-тестирования [24], пассивный тильт (т.е. без фармакологической провокации) выполняется методом, рекомендованным действующими рекомендациями [18, 24]. После пребывания в положении лежа на спине в течение не менее 5 минут пациента наклоняют с поднятой головой на угол от 60° до 70° в течение не менее 20 минут и оценивают ВР/АД [18, 24]. Kario [18] предположил, что диагноз ОГТ следует считать достоверным, когда САД увеличивается на 20 мм рт. ст. САД во время клинического теста активного стояния или наклона, и вероятным, когда САД увеличивается на 10 мм рт. ст. САД при тех же процедурах. Напротив, при домашнем активном стоянии более консервативный порог повышения САД на 10 мм рт. ст. может рассматриваться для точного диагноза ОГТ.

Патофизиология ОГТ

Патофизиология ОГТ до конца не изучена, но ОГТ считается проявлением дисфункции ВНС, как сообщалось и при ОГ, и при обоих нарушениях задействованы общие механизмы, действующие противоположным образом [18]. Основные рабочие механизмы, лежащие в основе развития ОГТ, функционируют следующим образом.

Ортостаз последовательно вызывает венозное накопление, снижение венозного возврата, уменьшение ударного объема и сердечного выброса, состояния, которые связаны с преходящим снижением АД. У здоровых людей падение АД стимулирует артериальные барорецепторы с параллельной активацией и деактивацией симпатической и парасимпатической активности соответственно. Эта компенсаторная вегетативная реакция восстанавливает АД в течение нескольких секунд за счет вазоконстрикции и увеличения частоты сердечных сокращений [18, 25]. У пациентов с ОГТ наблюдается чрезмерная симпатическая реакция, вызывающая чрезмерную вазоконстрикцию, которая поднимает АД выше уровня АД в положении лежа [18], в то время как более выраженное увеличение частоты сердечных сокращений также может способствовать этому явлению, хотя и в меньшей степени [10]. Действительно, Lee и соавт. [23] подтвердили, что пациенты с ОГТ имели более высокое периферическое сосудистое сопротивление по сравнению с пациентами с нормальной ортостатической реакцией АД во время наклона, в то время как два дополнительных исследования показали, что пациенты с ОГТ имели более высокие уровни норадреналина в плазме в вертикальном положении по сравнению с их коллегами без ОГТ [8, 21]. Кроме того, Vriz и соавт. [26] заметили, что пациенты с ОГТ имели более высокий сердечный выброс и частоту сердечных сокращений в состоянии покоя, а также более высокий выброс норадреналина с мочой по сравнению с лицами без ОГТ, что позволяет предположить, что ОНТ характеризуется повышенной исходной симпатической активностью, а снижение сердечного выброса, вызванное ортостазом, может вызвать чрезмерную симпатическую реакцию. Дисфункция ВНС объясняется нарушением чувствительности артериальных и сердечно-легочных барорецепторов и/или неспособностью барорефлекторов приспособиться к «нормальным» значениям АД, тогда как альфа-адренергическая сосудистая гиперактивность считается еще одним важным механизмом, опосредующим чрезмерную вазоконстрикцию [18, 27]. Активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и повышенная секреция вазопрессина также могут быть вовлечены в развитие ОГТ [8, 18, 27]. Кроме того, ригидность артерий и ремоделирование мелких артерий могут усугубить ортостатическую симпатическую реакцию и способствовать чрезмерному увеличению сосудистого сопротивления [18, 28]. Кроме того, чрезмерное венозное накопление может способствовать патогенезу ОГТ [21]. Причина, по которой общие пусковые факторы и

механизмы могут способствовать развитию ОГТ у некоторых пациентов и ОГТ у других, до сих пор остается неясной [29].

Многие факторы, в том числе дисфункция вегетативной нервной системы, нарушения барорецепторных рефлексов и изменения свойств аорты у пожилых людей, предрасполагают к увеличению частоты возникновения ОГТ у пожилых людей. Было установлено, что ОГТ является фактором риска цереброваскулярных заболеваний и сердечно-сосудистых заболеваний у пожилых людей [8, 28] и независимым предиктором сердечно-сосудистой смерти у очень пожилых пациентов [30].

Корреляция с болезнью

Сердечно-сосудистые заболевания

Два исследования продемонстрировали связь между ортостатической гипертензией и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Во-первых, большое перекрестное исследование, включившее 4711 пациентов с гипертонией и 826 человек с нормальным артериальным давлением, продемонстрировало, что ортостатическая гипертензия была значимо связана с заболеваниями периферических артерий и инсультом у пациентов с гипертонией [9]. Эти ассоциации были особенно сильны у пациентов, не получавших антигипертензивного лечения. Однако о значимой связи между ортостатической гипертензией и ишемической болезнью сердца не сообщалось.

Во-вторых, исследование риска атеросклероза (Atherosclerosis Risk in Communities, ARIC) продемонстрировало, что ортостатическая гипотензия была значимо связана с нелакунарными тромботическим инсультами (отношение рисков [ОР] 2,61, 95% ДИ 1,87–3,64) и кардиоэмболическими инсультами (ОР 2,27, 95% ДИ 1,26–4,11) в течение медианного периода наблюдения до 18,7 лет [31]. Также сообщалось о U-образной связи между ортостатическим изменением систолического артериального давления и частотой лакунарного инсульта. Ортостатическое повышение систолического артериального давления ≥20 мм рт.ст. было связано с лакунарным инсультом (ОР 2,11, 95% ДИ 1,05–4,20).

Факторы сердечно-сосудистого риска

В перекрестных исследованиях ортостатическая гипертензия была связана с пожилым возрастом, а также с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, включая гипертонию, диабет и триглицеридемию (рисунок 1) [32]. В исследовании ARIC доля чернокожих людей была значительно больше, средний уровень систолического артериального давления в положении сидя был выше, а прогнозируемый риск развития ишемической болезни сердца через 8 лет (оцененный с использованием уравнения риска, основанного на анализе Фрамингемского исследования) был выше среди участников с ортостатической гипертензией, чем среди участников с

ортостатической нормотензией [33]. Следовательно, пожилой возраст и метаболические факторы риска, вероятно, связаны с ортостатической гипертензией.

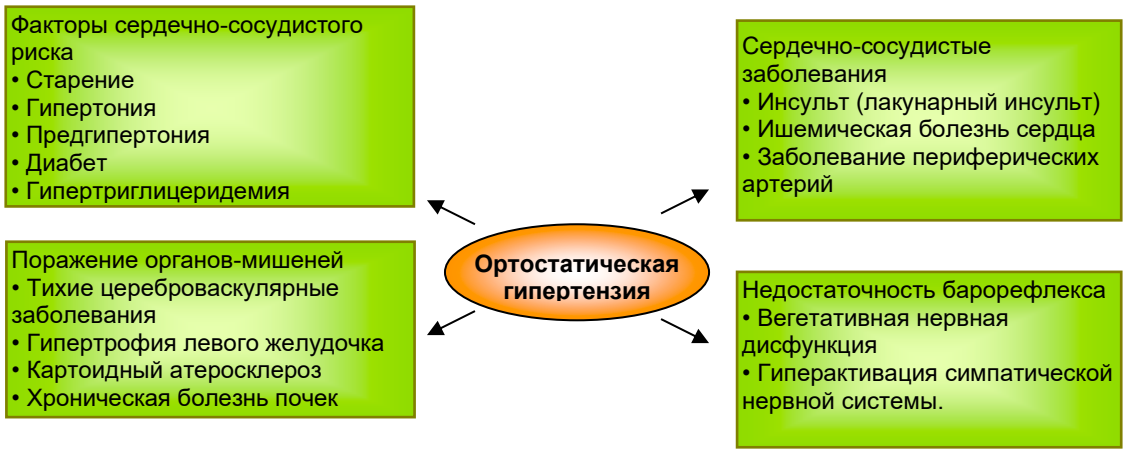


Рисунок 1. Ортостатическая гипертензия и связанные с ней заболевания. Ортостатическая гипертензия связана с сердечно-сосудистыми факторами риска, сердечно-сосудистыми заболеваниями и повреждением органов-мишеней, а также с недостаточностью барорефлекса, которая связана с выраженной вариабельностью артериального давления, обмороками и внезапной смертью [34].

Возрастные последствия

Патофизиологические основы и клинические характеристики ортостатической гипертензии могут несколько различаться у молодых и пожилых людей. У молодых людей симпатические нарушения, вероятно, являются основной причиной ортостатической гипертензии, тогда как у пожилых людей развитию ортостатической гипертензии могут способствовать дополнительные факторы, включая сосудистые заболевания, барорефлекторную недостаточность, заболевания головного мозга и хронической болезнью почек. Клиническим проявлением ортостатической гипертензии у молодых людей является преимущественно предгипертония, а у пожилых – повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний. У молодых людей чаще всего наблюдается диастолическая ортостатическая гипертензия, часто сопровождающаяся ортостатической тахикардией (сердечно-реактивный тип) [26], тогда как у пожилых людей, как правило, наблюдается систолическая ортостатическая гипертензия (тип сосудистой жесткости) [8, 35]. Воспроизводимость ортостатической гипертензии у молодых людей кажется плохой. поскольку он зависит от функционального симпатического тонуса, тогда как у пожилых людей он кажется довольно хорошим, поскольку структурные сосудистые факторы способствуют развитию ортостатической гипертензии у пожилых людей. Эти возрастные характеристики ортостатической гипертензии могут быть аналогичны характеристикам утреннего скачка артериального давления [36].

Нарушения артериального давления

Кроме того, мы показали, что у людей с крайне ковшом и стояком часто наблюдаются немые инфаркты головного мозга и поражения белого вещества,48 и они подвергаются высокому риску будущего клинического инсульта.49

Ортостатическая гипертензия связана с различными другими типами вариабельности артериального давления, такими как чрезмерный утренний скачок артериального давления и резкое падение артериального давления в ночное время (рисунок 2) [8, 35, 37, 38]. Эти отклонения артериального давления связаны с повышенным сердечно-сосудистым риском [38]. В исследованиях [35] было обнаружено, что у людей с экстремальным падением артериального давления в ночное время часто наблюдается ортостатическая гипертензия, тогда как у людей с более высоким ночным артериальным давлением, чем у дневного артериального давления, часто наблюдается ортостатическая гипотензия. Кроме того, было показано, что гипотоники часто имеют скрытые инфаркты головного мозга и поражения белого вещества [40] и имеют высокий риск клинического инсульта в будущем [41]. У экстремальных гипотоников, у которых ночное артериальное давление снижается, отмечается утренний скачок артериального давления [38].

Рисунок 2. Ортостатическая гипертензия и связанная с ней вариабельность артериального давления. Ортостатическая гипертензия связана с различными другими типами нарушений артериального давления, включая чрезмерный утренний скачок артериального давления и нарушение циркадной вариабельности артериального давления.

У пациентов с гипертонией утреннее артериальное давление значительно выше у пациентов с ортостатической гипертензией, чем у пациентов с ортостатической нормотензией или ортостатической гипотензией [8]. Повышение ортостатического артериального давления из положения лежа на спине после пробуждения может частично способствовать утренней гипертензии. Кроме того, ортостатическая гипертензия связана с увеличением среднего уровня и вариабельности дневного дневного артериального давления [8].

SHATS

Ортостатическая гипертензия является одним из компонентов вариабельности артериального давления при системном гемодинамическом атеротромботическом синдроме (systemic haemodynamic atherothrombotic syndrome, SHATS) [42]. Этот синдром включает в себя

системное атеротромботическое поливаскулярное заболевание и повреждение органов-мишеней, которое усугубляется пульсирующим гемодинамическим стрессом и тромбометаболическими воспалительными факторами риска, в том числе диабет и хроническая болезнь почек.

Системное атеротромботическое поливаскулярное заболевание само по себе и поражение органов-мишеней головного мозга, сердца, почек и артерий в результате нейрогуморальной активации [43] повышают центральное давление и вариабельность артериального давления за счет снижения чувствительности барорецепторов и образуют порочный круг с гемодинамическим стрессом, приводящим к прогрессирование поражения органов [38, 42]. Три компонента свойств артериального давления: чувствительность барорецепторов [44], вариабельность артериального давления [45] и центральное давление [46] тесно связаны с ранней стадией старения [47] и лежат в основе развития SHATS. Уменьшение затухания передачи пульсовых волн от аорты к периферическим артериям и увеличение вариабельности отражения усиленных пульсовых волн от периферических артерий к аорте вследствие повышения жесткости крупных артерий и нарушения барорефлекторной чувствительности, увеличивает воздействие пульсовых волн на сердечно-сосудистую систему, приводящее к разрыву атеросклеротических бляшек, ухудшению гипертрофии левого желудочка и диастолической функции [55, 56], повреждению эндотелия и ремоделированию мелких артерий [48]. Кроме того, гемодинамический пульсирующий стресс может напрямую индуцировать проксимальную перфорирующую артериолу (branch atheromatous disease, BAD), при которой виновник поражения находится рядом с устьем прямой ветви (малой артерии) главной мозговой артерии, где гемодинамический стресс преувеличен [49]. Следовательно, BAD может быть одним из типичных фенотипов небольших инфарктов при SHATS [31].

Этот механизм может частично объяснить повышенный сердечно-сосудистый риск у пациентов с ортостатической гипертензией. Как упоминалось выше, ортостатическая гипертензия увеличивает вариабельность артериального давления непосредственно в результате изменений положения в повседневной жизни и частично связана с другими формами вариабельности артериального давления, включая утренние скачки артериального давления [37, 38, 50]. Эти повторяющиеся скачки вариабельности артериального давления могут усугублять повреждение органов синергетически с прогрессирующими сосудистыми заболеваниями. У пожилых пациентов с артериальной гипертензией и повышенной жесткостью артерий ортостатическое повышение артериального давления и ортостатическая гипертензия ассоциировались с микроальбуминурией независимо от уровня систолического артериального давления в положении сидя [51]. Кроме того, лечение альфа-блокатором доксазозином уменьшало альбуминурию у пациентов с ортостатической гипертензией, и это снижение было

связано с уменьшением изменения ортостатического артериального давления, независимо от снижения среднего систолического артериального давления в сидячем положении [52].

Заключение

Ортостатическая гипертензия имеет значительную распространенность среди пожилых людей с гипертонической болезнью и еще более высокую распространенность среди лиц с неконтролируемой артериальной гипертензией. Корреляция между ортостатической гипертензией и смертностью была подтверждена в многочисленных исследованиях, что подчеркивает ее важность как проблемы здравоохранения и необходимость скрининга [53].

Ортостатическая гипертензия является компонентом вариабельности артериального давления, который увеличивает пульсирующий гемодинамический стресс от центрального давления и кровотока, что приводит к увеличению риска SHATS. Все больше данных свидетельствует о том, что ортостатическая гипертензия также является формой предгипертензии, которая связана с повреждением органов и повышенным риском сердечно-сосудистых событий. Подход, основанный на информационных технологиях и использующий самостоятельное измерение артериального давления в домашних условиях [54], может помочь клиницистам обнаружить воспроизводимую ортостатическую гипертензию в ближайшем будущем. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы продемонстрировать, является ли это состояние только маркером заболевания или одной из основных причин повреждения органов и сердечно-сосудистых событий, а также могут ли конкретные методы лечения снизить вариабельность артериального давления и сердечно-сосудистые события у пациентов с ортостатической гипертензией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атюнина И..В., Ощепкова Е.В., Рогоза А.Н. Ортостатические гипотензивные реакции у больных пожилого и старческого возраста с артериальной гипертонией. Евразийский кардиологический журнал. 2020;(4):52-63, https://doi.org/10.38109/2225-1685-2020-4-52-63
2. Коваленко Ф. А., Канорский С. Г. Артериальная гипотензия у пациентов пожилого и старческого возраста – проблема эффективной фармакотерапии артериальной гипертензии. Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. 2022; 10 (33): 12–19. DOI 10.24412/2311-1623-2022-33-12-19
3. Головина Г.А., Дупляков Д.В. Ортостатическая гипотензия. Взгляд кардиолога. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2014. - Том 20, № 2 / 2014
4. Лузина А.В., Рунихина Н.К., Ткачева О.Н., Лысенков С.Н., и др. Ортостатическая гипотония при артериальной гипертензии у пациентов 60 лет и старше: взаимосвязь с

артериальной жесткостью и синдромом старческой астении. Альманах клинической медицины. 2021; 49 (2): 157–164. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-017

5. Rose KM, Eigenbrodt ML, Biga RL, Couper DJ, et al. Orthostatic hypotension predicts mortality in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study. Circulation. 2006;114:630–636

6. Freeman R, Abuzinadah AR, Gibbons C, Jones P, Miglis MG, Sinn DI. Orthostatic Hypotension: JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol. 2018;72:1294–1309

7. Veronese N, De Rui M, Bolzetta F, Zambon S, et al. Orthostatic Changes in Blood Pressure and Mortality in the Elderly. The ProVA Study Am J Hypertens. 2015;28:1248–1256

8. Kario K, Eguchi K, Hoshide S, Hoshide Y, et al. U-curve relationship between orthostatic blood pressure change and silent cerebrovascular disease in elderly hypertensives. Orthostatic hypertension as a new cardiovascular risk factor. J Am Coll Cardiol. 2002;40:133–141

9. Fan X-H, Wang Y, Sun K, Zhang W, Wang H, Wu H, et al. Disorders of orthostatic blood pressure response are associated with cardiovascular disease and target organ damage in hypertensive patients. Am J Hypertens. 2010;23:829–837

10. Agnoletti D, Valbusa F, Labat C, Gautier S, Mourad J-J, Benetos A, et al. Evidence for a Prognostic Role of Orthostatic Hypertension on Survival in a Very Old Institutionalized Population. Hypertens Dallas Tex. 1979;2016(67):191–196

11. Briggs R, Carey D, Kennelly S P, Kenny R A. Longitudinal Association Between Orthostatic Hypotension at 30 Seconds Post-Standing and Late-Life Depression. Hypertension. 2018;71:946–954

12. Matsubayashi K, Okumiya K, Wada T, Osaki Y, Fujisawa M, Doi Y, et al. Postural Dysregulation in Systolic Blood Pressure Is Associated With Worsened Scoring on Neurobehavioral Function Tests and Leukoaraiosis in the Older Elderly Living in a Community. Stroke. 1997;28:2169–2173

13. Iseli R, Nguyen VTV, Sharmin S, Reijnierse EM, Lim WK, Maier AB. Orthostatic hypotension and cognition in older adults: A systematic review and meta-analysis. Exp Gerontol. 2019;120:40–49

14. Kocyigit SE, Soysal P, Bulut EA, Aydin AE, Dokuzlar O, Isik AT. What is the relationship between frailty and orthostatic hypotension in older adults? J Geriatr Cardiol JGC. 2019;16:272–9.

15. Губарева Е.Ю., Фатенков О.В., Губарева И.В., Клименко Д.А., и др. Ортостатическая артериальная гипертензия в стратификации сердечно-сосудистого риска у больных гипертонической болезнью. Российский кардиологический журнал. 2021;26(1S):4221. https://doi.org/10.15829/560-4071-2021-4221

16. Рязанцева Е.Е., Мелехов А.В., Гендлин Г.Е. Артериальная гипертония и ортостатическая гипотензия: клиническая дилемма. Новости кардиологии 2*2014: 20-27

17. Suemoto CK, Baena CP, Mill JG, Santos IS, et al. Orthostatic Hypotension and Cognitive Function: Cross-sectional Results From the ELSA-Brasil Study. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2019;74:358–65

18. Kario K. Orthostatic hypertension – a new haemodynamic cardiovascular risk factor. Nat Rev Nephrol. 2013;9:726–38

19. Magkas N, Tsioufis C, Thomopoulos C, Dilaveris, et al. Orthostatic hypertension: from pathophysiology to clinical applications and therapeutic considerations. *J Clin Hypertens*. 2019;21:426–433. doi: 10.1111/jch.13491

20. Bhuachalla BN, McGarrigle CA, O'Leary N, et al. Orthostatic hypertension as a risk factor for age-related macular degeneration: evidence from the Irish longitudinal study on ageing. *Exp Gerontol*. 2018;106:80-87

21. Streeten DH, Auchincloss Jr JH, Anderson Jr GH, Richardson RL, Thomas FD, Miller JW. Orthostatic hypertension. Pathogenetic studies. *Hypertension*. 1985;7(2):196-203

22. Tabara Y, Igase M, Miki T, et al. Orthostatic hypertension as a predisposing factor for masked hypertension: the J-SHIPP study. *Hypertens Res*. 2016;39(9):664-669

23. Lee H, Kim HA. Orthostatic hypertension: an underestimated cause of orthostatic intolerance. *Clin Neurophysiol*. 2016;127(4):2102-2107

24. Brignole M, Moya A, de Lange FJ, et al. Practical Instructions for the 2018 ESC Guidelines for the diagnosis and management of syncope. *Eur Heart J*. 2018;39(21):e43-e80

25. Ricci F, De Caterina R, Fedorowski A. Orthostatic hypotension: epidemiology, prognosis, and treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2015;66(7):848-860

26. Vriz O, Soon G, Lu H, Weder AB, et al. Does orthostatic testing have any role in the evaluation of the young subject with mild hypertension?: an insight from the HARVEST study. *Am J Hypertens*. 1997;10(5 Pt 1):546-551

27. Buddineni JP, Chauhan L, Ahsan ST, Whaley-Connell A. An emerging role for understanding orthostatic hypertension in the cardiorenal syndrome. *Cardiorenal Med*. 2011;1(2):113-122

28. Hoshide S, Kario K, Eguchi K, Ishikawa J, et al. Altered aortic properties in elderly orthostatic hypertension. *Hypertens Res*. 2005;28(1):15-19

29. Robertson D. Orthostatic hypertension: the last hemodynamic frontier. *Hypertension*. 2011;57(2):158-159

30. Hoshide S, Ishikawa J, Eguchi K, Shimada K, Kario K: The relationship between orthostatic hypertension and cardiovascular death in very elderly subjects. Auton Neurosci 2007; 135: 130–131.

31. Yatsuya, H. *et al.* Postural changes in blood pressure and incidence of ischemic stroke subtypes: the ARIC study. *Hypertension* 57, 167–173 (2011)

32. Hirai, F. E., Moss, S. E., Klein, B. E. & Klein, R. Postural blood pressure changes and associated factors in long-term type 1 diabetes: Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *J. Diabetes Complications* 23, 83–88 (2009)

33. Nardo, C. J. *et al.* Descriptive epidemiology of blood pressure response to change in body position. The ARIC study. *Hypertension* 33, 1123–1129 (1999)

34. Ketch, T., Biaggioni, I., Robertson, R. & Robertson, D. Four faces of baroreflex failure: hypertensive crisis, volatile hypertension, orthostatic tachycardia, and malignant vagotonia. *Circulation* 105, 2518–2523 (2002)

35. Kario, K., Eguchi, K., Nakagawa, Y., Motai, K. & Shimada, K. Relationship between extreme dippers and orthostatic hypertension in elderly hypertensive patients. *Hypertension* 31, 77–82 (1998)

36. Kario, K. Is vascular morning blood pressure surge in the elderly resistant to antihypertensives and more risky? *Hypertension* 60, e16 (2012)

37. Kario, K. Preceding linkage between a morning surge in blood pressure and small artery remodeling: an indicator of prehypertension? *J. Hypertens.* 25, 1573–1575 (2007)

38. Kario, K. Morning surge in blood pressure and cardiovascular risk: evidence and perspectives. *Hypertension* 56, 765–773 (2010)

39. Kario, K. et al. Morning surge in blood pressure as a predictor of silent and clinical cerebrovascular disease in elderly hypertensives: a prospective study. *Circulation* 107, 1401–1406 (2003)

40. Kario, K. et al. Nocturnal fall of blood pressure and silent cerebrovascular damage in elderly hypertensive patients. Advanced silent cerebrovascular damage in extreme dippers. *Hypertension* 27, 130–135 (1996)

41. Kario, K. et al. Stroke prognosis and abnormal nocturnal blood pressure falls in older hypertensives. *Hypertension* 38, 852–857 (2001)

42. Kario, K. Proposal of a new strategy for ambulatory blood pressure profile-based management of resistant hypertension in the era of renal denervation. *Hypertens. Res.* 36, 478–484 (2013)

43. Hart, E. C. et al. Translational examination of changes in baroreflex function after renal denervation in hypertensive rats and humans. *Hypertension* 62, 533–541 (2013)

44. Okada, Y. et al. Morning blood pressure surge is associated with arterial stiffness and sympathetic baroreflex sensitivity in hypertensive seniors. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 305, H793–H802 (2013)

45. Sanchez Gelós, D. F., Otero-Losada, M. E., Azzato, F. & Milei, J. Morning surge, pulse wave velocity, and autonomic function tests in elderly adults. *Blood Press. Monit.* 17, 103–109 (2012)

46. Palatini, P. et al. Arterial stiffness, central hemodynamics, and cardiovascular risk in hypertension. *Vasc. Health Risk Manag.* 7, 725–739 (2011)

47. Nilsson, P. M. *et al.* Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *J. Hypertens.* 31, 1517–1526 (2013)

48. Muiesan, M. L. et al. Pulsatile hemodynamics and microcirculation: evidence for a close relationship in hypertensive patients. *Hypertension* 61, 130–136 (2013)

49. Tatsumi, S. & Yamamoto, T. An autopsied case of an apparent pontine branch atheromatous disease. *Eur. Neurol.* 63, 184–185 (2010)

50. Kario, K. Orthostatic hypertension: a measure of blood pressure variation for predicting cardiovascular risk. *Circ. J.* 73, 1002–1007 (2009)

51. Hoshide, S. et al. Orthostatic hypertension detected by self-measured home blood pressure monitoring: a new cardiovascular risk factor for elderly hypertensives. *Hypertens. Res.* 31, 1509–1516 (2008)

52. Hoshide, S. et al. Orthostatic hypertension: home blood pressure monitoring for detection and assessment of treatment with doxazosin. *Hypertens. Res.* 35, 100–106 (2012)

53. Roxana-Maria Stanica, Andreea Catarina Popescu. Orthostatic hypotension in hypertensive older patients //J Hypertens Res (2021) 7(2):46–54

54. Kario, K. et al. Development of a disaster cardiovascular prevention network. *Lancet* 378, 1125–1127 (2011)

55. Makowski, K. et al. Left ventricular diastolic dysfunction is associated with impaired baroreflex at rest and during orthostatic stress in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J. Hum. Hypertens.* 27, 465–473 (2013).

56. Milan, A. et al. Baroreflex sensitivity correlates with left ventricular morphology and diastolic function in essential hypertension. *J. Hypertens.* 25, 1655–1664 (2007)

НЕИНВАЗИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОСТРОГО ОККЛЮЗИРУЮЩЕГО ПОРАЖЕНИЯ ИНФАРКТ-ОТВЕТСТВЕННОЙ АРТЕРИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА БЕЗ ПОДЪЕМА СЕГМЕНТА ST

А.В. Стрелкова[1,2], М.Г. Чащин[1], А.Ю. Горшков[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г.Москва

[2]ГБУЗ МО Одинцовская областная больница, г.Одинцово

Резюме

Цель работы. Изучить неинвазивные предикторы, ассоциированные с наличием острого окклюзирующего поражения инфаркт-ответственной артерии (ИОА), у пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST (ИМбпST).

Материалы и методы. Представлены результаты ретроспективного анализа медицинской документации 309 пациентов, получавших лечение по поводу ИМбпST, в период с апреля 2021 года по февраль 2023 года в региональном сосудистом центре ГБУЗ МО Одинцовской областной больницы. Всем пациентам проводился объем обследований, соответствовавший действующим клиническим рекомендациям.

Результаты. В зависимости от показателей антеградного кровотока в ИОА пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа – 68 пациентов с окклюзией ИОА, 2 группа – 241 пациент с замедленным или нормальным антеградным кровотоком. Стенокардию напряжения в анамнезе отмечали 14,7% (n=10) пациентов 1 группы и 27,8% (n=67) пациентов 2 группы (p=0,03). У пациентов с окклюзией ИОА чаще визуализировались боковая локализация и акинезия зоны поражения (p≤0,01). У больных 1 группы отмечался лейкоцитоз (10,3±2,7*10^9/л против 8,8±2,7*10^9/л) и более высокие уровни КФК-МВ (44,4±23,8 МЕ/л против 24,0±10,6 МЕ/л) и Тропонина I при поступлении (122±12,9 нг/мл против 30,3±3,1 нг/мл), (p<0,05). По данным однофакторного регрессионного анализа возраст <54 лет (ОШ 2,07, 95% ДИ 1,1-3,9), отсутствие стенокардии напряжения в анамнезе (ОШ 0,45, 95% ДИ 0,2-0,9), боковая локализация ИМбпST (ОШ 2,23, 95% ДИ 1,3-3,9) и акинезия (ОШ 3,5, 95% ДИ 1,9-6,5), а также уровни Тропонина I≥120 нг/мл (ОШ 3,32, 95% ДИ 1,7-6,5) и КФК-МВ≥24,0 МЕ/л (ОШ 13,5, 95% ДИ 1,5-118,7) достоверно ассоциировались с наличием острой окклюзии ИОА.

Заключение. Острая окклюзия ИОА у пациентов с ИМбпST значимо ассоциировалась с более молодым возрастом, боковой локализацией поражения, зоной акинезии, уровнем Тропонина I при поступлении ≥120 нг/мл и КФК-МВ≥24,0 МЕ/л.

Ключевые слова: неинвазивные предикторы, острая окклюзия инфаркт-ответственной артерии при ИМбпST, показатели антеградного кровотока.

Список сокращений: GRACE - Global Registry of Acute Coronary Events; TIMI - Thrombolysis In Myocardial Infarction; TIMI-UA/NSTEMI - Thrombolysis In Myocardial Infarction Risk Score for Unstable Angine/Non-ST-segment elevation myocardial infarction; АКШ – аорто-коронарное шунтирование; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; БЛНПГ – блокада левой ножки пучка Гиса; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМбпST – инфаркт миокарда без подъема сегмента ST; ИОА – инфаркт-ответственная артерия; КАГ – коронароангиография; КДР – конечный диастолический размер; КСР – конечный систолический размер; КФК – креатинфосфокиназа; КФК-МВ – креатинфосфокиназа сердечная фракция; МЖП – межжелудочковая перегородка; МНО – международное нормализованное отношение; ОКСбпST – острый коронарный синдром без подъема сегмента ST; ПТИ – протромбиновый индекс; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЭКГ – электрокардиография; ЭХО-КГ – эхокардиография.

Введение и цель исследования

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности во всем мире. Более 16% летальных исходов приходятся на долю ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. В частности, летальность от острых форм ИБС, по разным данным, составляет от 6,5% до 11,6% [2,3].

В настоящее время, ряд исследователей отмечают тенденцию к увеличению числа госпитализаций пациентов по поводу острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST (ОКСбпST). Так, по данным Стаценко И.Ю. и соавт. в России по состоянию на 2020 год соотношение доли больных с ОКСбпST к доли больных с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST составило 2:1 [4].

В большинстве случаев развитие ОКСбпST обусловлено прогрессирующим неокклюзирующим атеросклеротическим поражением коронарных артерий, однако разные авторы указывают на то, что частота случаев острой окклюзии инфаркт-ответственной артерии (ИОА) может варьироваться от 23% до 46% случаев ОКСбпST [5,6,7].

Согласно действующим клиническим рекомендациям, выбор тактики ведения пациентов с ОКСбпST преимущественно основывается на стратификации риска по шкале GRACE [2]. В соответствии с которой больные подразделяются на 3 группы риска летального исхода: высокого, умеренного и низкого, а также на основании наличия клинических критериев очень высокого и

высокого рисков. Как правило у подавляющего большинства пациентов, характеризующихся более высоким риском, коронароангиография (КАГ) выполняется в наиболее ранние сроки после госпитализации, тогда как у части пациентов умеренного и низкого рисков сроки верификации стенозирующего поражения коронарного русла могут достигать 72 часов и более.

В ряде исследований продемонстрировано наличие высокого потенциала ряда клинических признаков, лабораторных данных, показателей эхокардиографии (ЭХО-КГ) в предтестовой оценке коронарного русла [8,9,10]. Однако данные работы выполнялись на когортах больных со стабильным течением ИБС, при анализе не учитывалась морфология атеросклеротической бляшки и ассоциация характеристик атеросклеротического поражения с ближайшими и отдаленными исходами, что особо важно у пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST (ИМбпST). В этой связи поиск неинвазивных маркеров, ассоциированных с острым окклюзирующим поражением ИОА, у пациентов с ИМбпST является актуальной исследовательской задачей.

Материалы и методы

В ретроспективный анализ вошли данные 309 пациентов, получавших лечение в условиях регионального сосудистого центра ГБУЗ МО Одинцовской областной больницы с подтвержденным клиническим диагнозом ИМбпST. Всем пациентам выполнялся стандартный объем исследований в соответствии с действующими клиническими рекомендациями, в том числе ЭХО-КГ, КАГ с выполнением чрескожных коронарных вмешательств по показаниям. Антеградный кровоток в ИОА характеризовался с помощью ангиографической шкалы TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction). Риск летального исхода на госпитальном этапе оценивался на основании шкал GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) и TIMI-UA/NSTEMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction Risk Score for Unstable Angine/Non-ST-segment elevation myocardial infarction).

Результаты

В зависимости от показателей антеградного кровотока в ИОА пациенты были разделены на 2 группы: в 1 группу вошло 68 пациентов с окклюзией ИОА (TIMI 0); во 2 группу – 241 пациент с замедленным или нормальным кровотоком в ИОА (TIMI 1-3). Клинико-анамнестическая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Средний возраст больных составил 63,1±13,0 лет в 1 группе и 64,9±11,4 лет в группе 2 (p=0,29). В обеих группах преобладали пациенты мужского пола (70,6% и 66,8% соответственно, p=0,56). По показателю индекса массы тела группы были сопоставимы (p=0,35). Предшествующую стенокардию напряжения в анамнезе отмечали 14,7% (n=10) пациентов 1 группы и 27,8% (n=67) пациентов 2

группы (p=0,03). Нарушений мозгового кровообращения в анамнезе у пациентов 1 группы не отмечалось, тогда как во 2 группе ишемический инсульт ранее перенесли 10,4% (n=25) больных.

Таблица 1. Клинико-анамнестическая характеристика пациентов

Показатель	TIMI 0 (n=68)	TIMI 1-3 (n=241)	P-value
Мужской пол, % (n)	70,6 (48)	66,8 (161)	0,55
Возраст, лет*	63,1 [53; 72]	64,9 [57; 73]	0,29
Индекс массы тела, кг/м^2*	29,3 [26,1; 31,1]	28,6 [25,4; 30,7]	0,35
Курение, % (n)	26,5 (18)	24,9 (60)	0,79
Гипертоническая болезнь, % (n)	97,1 (66)	99,6 (240)	0,06
Сахарный диабет, % (n)	17,6 (12)	26,1 (63)	0,15
Предшествующая стенокардия, % (n)	14,7 (10)	27,8 (67)	**0,03**
Постинфарктный кардиосклероз, % (n)	22,1 (15)	23,2 (56)	0,83
Дислипидемия, % (n)	16,2 (11)	20,3 (49)	0,44
Нарушение мозгового кровообращения, % (n)	0	10,4 (25)	**0,005**
Тромбоз глубоких вен, % (n)	1,5 (1)	2,9 (7)	0,51
Фибрилляция предсердий, % (n)	5,9 (4)	11,2 (27)	0,2
Ранее проведенное ЧКВ, % (n)	13,2 (9)	14,1 (34)	0,85
АКШ в анамнезе, % (n)	0	2,5 (6)	0,19

Примечание: * - количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1, Q3]); АКШ – аорто-коронарное шунтирование, ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство.

Оценка по шкале GRACE составила 104,8±31,6 балла в группе 1 и 107,5±29,5 балла в группе 2 (p=0,52). Средние баллы по шкале TIMI-UA/NSTEMI в группах оказались сопоставимы (2,66±1,22 и 2,59±1,14 соответственно, p>0,05).

Результаты инструментальных методов исследования представлены в таблице 2. Боковая локализация ИМбпST чаще отмечалась в 1 группе пациентов (44,1% (n=30) против 26,1% (n=63)), тогда как во 2 группе превалировали пациенты с поражением передней локализации (30,9% (n=2) против 47,3% (n=114)), (p=0,01). Показатели фракции выброса левого желудочка были сопоставимы в обеих группах (p>0,05). Акинезия миокарда в зоне инфаркта значительно чаще визуализировалась у пациентов 1 группы (p<0,01).

Таблица 2. Результаты инструментальных методов исследования

Показатель	TIMI 0 (n=68)	TIMI 1-3 (n=241)	P-value
ЭКГ			
ЧСС, уд/мин*	78,2 [67,8; 84,5]	79,3 [69; 87]	0,53
Локализация ИМбпST (% (n)):			
- Передняя	30,9 (21)	47,3 (114)	
- Нижняя	25 (17)	26,6 (64)	**0,01**
- Боковая	44,1 (30)	26,1 (63)	
Депрессия сегмента ST, % (n)	47,1 (32)	41,1 (99)	0,38
Отрицательный зубец Т, % (n)	45,5 (31)	39,4 (95)	0,36
БЛНПГ (известная ранее), % (n)	7,4 (5)	10 (24)	0,07
ЭХО-КГ			
Фракция выброса левого желудочка, %*	47,6 [41,5; 52]	49,8 [44; 58]	0,05
Степень нарушения сократимости (% (n)):			
- Нормокинез	26,5 (18)	41,1 (99)	
- Гипокинез	22 (15)	34 (82)	**0,0007**
- Акинез	50 (34)	23,7 (57)	
- Дискинез	1,5 (1)	1,2 (3)	
КДР, мм*	52 [49; 55]	51,9 [48; 55]	0,68
КСР, мм*	38,8 [35,3; 42]	37,9 [32; 42]	0,23
Толщина МЖП, мм*	11,9 [11; 13]	12,1 [11; 13]	0,40
Толщина ЗСЛЖ, мм*	10,2 [9,3; 11]	10,7 [10; 12]	0,13
СДЛА, мм рт.ст.*	33 [29,5; 35]	34 [29; 38]	0,55

Примечание: * - количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1, Q3]); БЛНПГ – блокада левой ножки пучка Гиса, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, МЖП – межжелудочковая перегородка, СДЛА – систолическое давление в легочной артерии, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Результаты лабораторной диагностики представлены в таблице 3. В группе 1 отмечался лейкоцитоз (10,3±2,7*10^9/л против 8,8±2,7*10^9/л), а также более высокие уровни Тропонина I при поступлении (122±12,9 нг/мл против 30,3±3,1 нг/мл) и КФК-МВ (44,4±23,8 МЕ/л против 24,0±10,6 МЕ/л), ($p<0,05$).

Таблица 3. Результаты лабораторных исследований

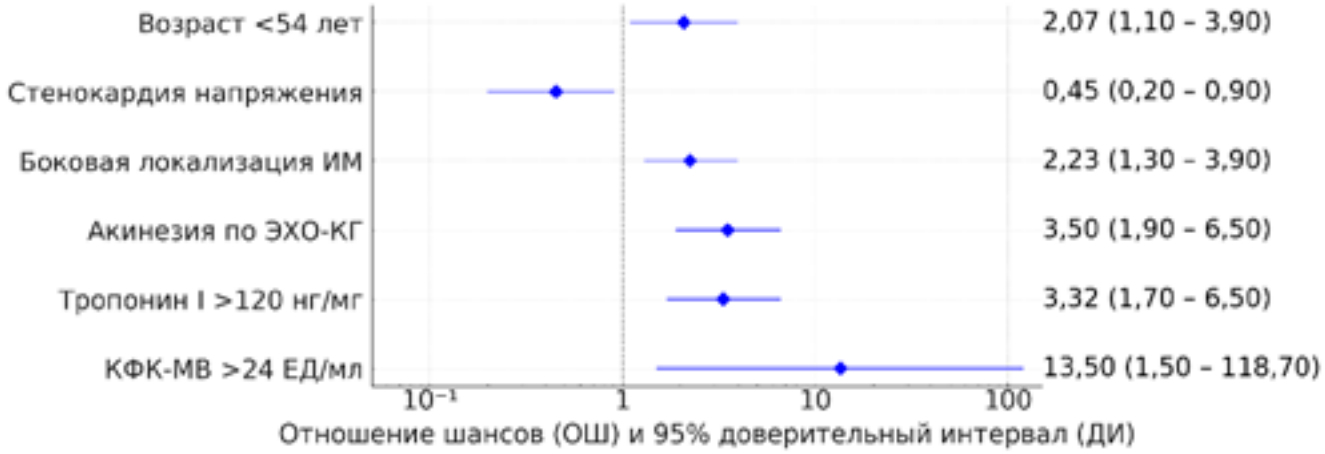
Показатель*	TIMI 0 (n=68)	TIMI 1-3 (n=241)	P-value
Общий анализ крови			
Эритроциты, 10^{12}/л	4,56 [4,1; 4,9]	4,52 [4,2; 4,9]	0,9
Гемоглобин, г/л	137,8 [125,5; 151,3]	136,9 [126; 149]	0,85
Тромбоциты, 10^9/л	270,4 [221,3; 331,8]	254,7 [199,3; 317]	0,34
Лейкоциты, 10^9/л	10,3 [8,7; 12,1]	8,9 [7,1; 10,4]	**0,0005**
Моноциты, %	4,6 [3,8; 5,3]	5,2 [3,5; 6,6]	0,48
Лимфоциты, %	22,2 [14,7; 27,7]	25,4 [20,4; 31,8]	0,11
СОЭ, мм/ч	17,4 [12; 25]	15,8 [9,3; 20]	0,77
Биохимический анализ крови			
Общий белок, г/л	68,7 [64; 72,5]	68,8 [64; 73]	0,88
Креатинин, мкмоль/л	95,9 [79,5; 103,5]	98,9 [82,5; 107,5]	0,28
Мочевина, ммоль/л	6,2 [4,9; 7,2]	6,4 [4,8; 7,3]	0,77
Общий билирубин, мкмоль/л	15,5 [8,8; 20,3]	14,6 [8,8; 16,7]	0,44
Общий холестерин, ммоль/л	5,2 [4,6; 5,6]	5,1 [4; 6,2]	0,89
Глюкоза, ммоль/л	6,1 [5,2; 8,2]	5,9 [5; 7,1]	0,33
КФК, МЕ/л	374,9 [187; 540,5]	214,9 [111; 263]	0,06
КФК-МВ, МЕ/л	44,4 [25,3; 57,8]	23,8 [18,5; 27,5]	**0,003**
СКФ, мл/мин	67 [55; 76,1]	63,7 [49,4; 75,7]	0,37
Тропонин I при поступлении, нг/мл	122 [3,9; 498,8]	30,3 [0,4; 383,8]	**0,002**
Коагулограмма			
АЧТВ, с	35,5 [30; 38,3]	30,8 [30; 32,5]	0,19
ПТИ, %	84,7 [62,8; 105]	87,6 [65,9; 110,9]	0,55
МНО	1,1 [0,9; 1,2]	1,2 [0,9; 1,4]	0,5
Фибриноген, г/л	2,6 [2,4; 3,6]	3,1 [2,6; 3,3]	0,56

Примечание: * - количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1, Q3]); АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, КФК – креатинфосфокиназа общая, КФК-МВ – креатинфосфокиназа сердечная фракция, МНО – международное нормализованное отношение, ПТИ – протромбиновый индекс, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

Средний срок госпитализации составил 5,8±1,5 дней в 1 группе и 6,1±2,0 дней во 2 группе (p=0,74). По частоте летального исхода на госпитальном этапе группы были сопоставимы (2,9% (n=2) и 3,3% (n=8) соответственно, p=0,88).

В результате проведенного однофакторного регрессионного анализа были выявлены следующие неинвазивные предикторы, ассоциированные с острой окклюзией ИОА по данным КАГ: возраст <54 лет, боковая локализация ИМбпST по данным ЭКГ, наличие зоны акинеза по данным ЭХО-КГ, а также уровни Тропонина I≥120 нг/мл и КФК-МВ≥24,0 МЕ/л (График 1). Предшествующая стенокардия напряжения в анамнезе достоверно снижала вероятность наличия острой окклюзии.

График 1. Факторы, ассоциированные с острой окклюзией ИОА (по данным однофакторного регрессионного анализа)



Заключение

У пациентов с ИМбпST наличие острой окклюзии ИОА ассоциировано с возрастом больных младше 54 лет, отсутствием предшествующей стенокардии напряжения, боковой локализацией и акинезией миокарда в зоне поражения, уровнями тропонина I при поступлении ≥120 нг/мл и КФК-МВ ≥ 24,0 МЕ/л.

ЛИТЕРАТУРА

1. Timmis A. et al. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2019 //European heart journal. – 2020. – Vol. 41, №. 1. – P. 12-85.
2. Барбараш О. Л. и др. Евразийские клинические рекомендации по диагностике и лечению острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST (ОКСбпST)//Евразийский кардиологический журнал. – 2021. – №. 4. – С. 6-59.
3. Глущенко В. А., Ирклиенко Е. К. Сердечно-сосудистая заболеваемость-одна из важнейших проблем здравоохранения //Медицина и организация здравоохранения. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 56-63.
4. Стаценко И. Ю., Сергеев В. С., Стаценко В. И. Медикаментозная терапия наиболее частых осложнений при остром коронарном синдроме с подъемом сегмента ST//Лекарственный вестник. – 2020. – Т. 14. – №. 4. – С. 3-8.
5. Popovic B. et al. Clinical significance of culprit vessel occlusion in patients with non–st-elevation myocardial infarction who underwent percutaneous coronary intervention //The American Journal of Cardiology. – 2023. – Vol. 188. – P. 95-101.
6. Hung C. S. et al. Prevalence and outcome of patients with non-ST segment elevation myocardial infarction with occluded “culprit” artery–a systemic review and meta-analysis //Critical Care. – 2018. – Vol. 22. – P. 1-11.
7. Khan A. R. et al. Impact of total occlusion of culprit artery in acute non-ST elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis //European heart journal. – 2017. – Vol. 38, №. 41. – P. 3082-3089.
8. Гаврилова Н. Е. и др. Методы оценки и возможности инструментальной диагностики субклинического атеросклероза коронарных артерий //Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18. – №. 6. – С. 136-141.
9. Бедрицкий С. А., Гендлин Г. Е., Никитин И. Г. Современные неинвазивные методы диагностики ишемической болезни сердца и роль стресс-эхокардиографии в оценке патологии сердца //Лечебное дело. – 2018. – №. 4. – С. 62-69.
10. Нозадзе Д. Н. и др. Инструментальные и лабораторные методы в выявлении нестабильных атеросклеротических бляшек //Атеросклероз и дислипидемии. – 2013. – №. 3. – С. 4-10.

ВЛИЯНИЯ ТИПА ЛИЧНОСТИ Д, КОПИНГ-СТРАТЕГИЙ И КОГНИТИВНОЙ ОЦЕНКИ НА ГОДОВОЙ ПРОГНОЗ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ ЧРЕСКОЖНОГО КОРОНАРНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

THE INFLUENCE OF PERSONALITY TYPE D, COPING STRATEGIES AND COGNITIVE ASSESSMENT ON THE ANNUAL PROGNOSIS IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AFTER PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Д.Н. Федорова, М.И. Аньчкова, А.Н. Сумин, А.В. Щеглова

Darina N. Fedorova, Maria I. Anichkova., Alexey N. Sumin1, Anna V. Shcheglova

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases Sosnovy Boulevard, 6, Kemerovo, Russia, 650002

Цель: изучить влияние типа личности Д, копинг-стратегий и когнитивной оценки на годовой прогноз у пациентов ишемической болезнью сердца (ИБС) после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ).

Ключевые слова: тип личности Д, копинг-стратегии, когнитивная оценка, ишемическая болезнь сердца, прогноз, чрескожное коронарное вмешательство.

Введение

Тип личности Д характеризуется сочетанием двух черт личности: «негативная возбудимость» (NA – negative affectivity) и «социальное подавление» (SI – social inhibition). Под NA понимают повышенную склонность испытывать отрицательные эмоции – беспокойство, печаль, тревога и др. SI характеризуется склонностью сдерживать выражение эмоций, скрытностью и низкой самооценкой. Именно сочетание этих двух компонентов повышает частоту сердечно-сосудистых осложнений у кардиологических больных [1]. В отличие от депрессии, тип личности Д характеризуется устойчивым способом реагирования на стрессорные ситуации [2], а также имеет существенный генетический компонент [3]. Как показало исследование THORESCI, тип личности Д может в разной степени соотноситься с различными стилями преодоления трудностей у пациентов с ИБС [4]. Более того, недавнее исследование показало, что неадекватные стратегии совладания опосредуют неблагоприятное влияние типа

личности Д на прогноз пациентов ИБС после ЧКВ [5]. В связи с чем, целью данного исследования было изучить влияние типа личности Д, копинг-стратегий и когнитивной оценки на годовой прогноз у пациентов с ИБС после ЧКВ.

Материал и методы

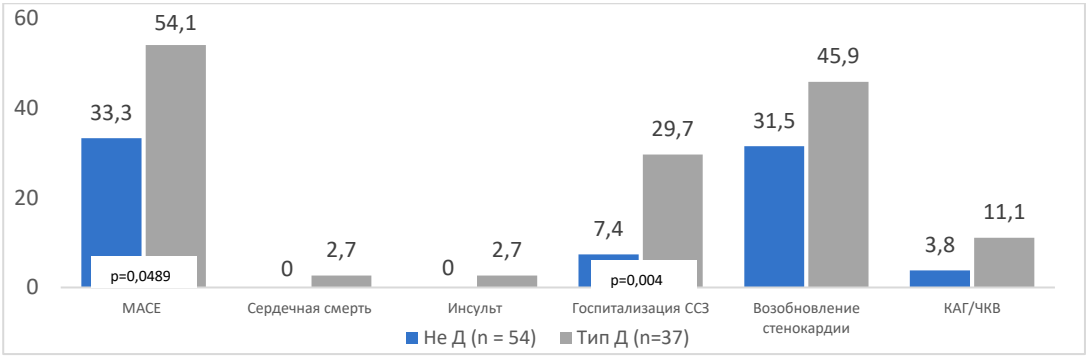
В исследовании приняли участие 112 пациентов, которые проходили обследование перед ЧКВ на базе ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (г. Кемерово). Типа личности Д определяли с помощью опросника DS-14 из руководства Европейского общества кардиологов. Опросник состоит из 14 вопросов, включающих подшкалы NA и SI. При наличии 10 баллов и выше по каждой из шкал диагностировали тип личности Д. Для оценки копинг-стратегий был использован опросники «Способы совладающего поведения» (Ways of Coping Questionnaire, WCQ) [6]. Опросник содержит пятьдесят различных вариантов поведения в проблемной или трудной жизненной ситуации. В зависимости от того, как часто испытуемый использует описываемый вариант поведения, ему предлагаются утверждения («никогда», «редко», «иногда», «часто»). Эти утверждения оцениваются по 4-балльной системе и сгруппированы в следующие шкалы: конфронтационный копинг, планирование решения проблемы, самоконтроль, положительная переоценка, принятие ответственности, дистанцирование, поиск социальной поддержки, бегство-избегание. Конфронтационный копинг предполагает агрессивное поведение с целью изменения положения дела, враждебность, готовность к риску. Для копинг-стратегии планирование решения проблемы характерна деятельность, включающая анализ, разработку алгоритмов решения проблемы. Копинг-стратегии самоконтроль свойственны усилия по регулированию и управлению своими эмоциями и действиями. Для копинг-стратегии положительная переоценка присущи усилия по поиску положительных моментов в проблемной или трудной жизненной ситуации. Копинг-стратегия принятие ответственности – это осознание собственной роли в возникновении проблемы и возможные способы ее решения. Копинг-стратегия дистанцирование предполагает усилия по отделению себя от проблемной ситуации и снижению ее значимости. Копинг-стратегия поиск социальной поддержки – это обращение к окружающим за помощью. Для копинг-стратегии бегство-избегание характерны усилия, которые направлены к уходу от трудной жизненной ситуации. Обработку «сырых» показателей осуществляли путем перевода в стандартные Т-баллы. Кроме того, степень выраженности для больного той или иной копинг-стратегии определялась как редкое использование, либо умеренное использование, либо выраженное предпочтение соответствующей стратегии. Субъективную оценку трудной жизненной ситуации (ТЖС) определяли с помощью авторской методики «Когнитивное оценивание ТЖС» Е. В. Битюцкой [7]. Методика состоит из двух частей. В первой респонденту предлагается перечислить

и коротко описать ситуации собственной жизни, которые он воспринимает как трудные. Вторая часть представлена 20 оценочных утверждений. Испытуемому предлагается соотнести описанные в первой части ситуации с каждым утверждением и проставить соответствующие оценки, используя 7-балльную шкалу. Опросник «Типы ориентаций в трудных ситуациях» [8] использовали для изучения ориентаций в трудной жизненной ситуации. Пациенты оценивали 76 утверждений, объединенных в 38 пар, по шкале от 0 – «реже всего» до 3 – «чаще всего». Подсчет показателя каждой ориентации в трудных ситуациях производился путем нахождения среднего значения по шкале. Через 1 год наблюдения оценивали наличие неблагоприятных событий (MACE - major adverse cardiac events): сердечно-сосудистая и несердечно-сосудистая смерть, инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) /транзиторная ишемическая атака (ТИА), повторная коронарография (КГ) и/или ЧКВ, возобновление клиники стенокардии, госпитализация по поводу сердечно-сосудистых заболеваний. Для анализа всю когорту пациентов разделили на две группы: 1) группа без MACE (n = 53); 2) группа с MACE (n = 38).

Статистическая обработка проводилась с использованием программного пакета SPSS 17.0. Распределение количественных переменных проверялось на нормальность с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные были представлены в виде средних значений (M) и стандартной ошибки среднего значения (SE), при ненормальном распределении - в виде медианы (Me) и квартилей (25-й и 75-й процентили). Для сравнения двух групп были использованы t-критерий Стьюдента, критерий Манна–Уитни и критерий хи-квадрат. Уровень критической значимости (p) был принят равным 0,05.

Результаты

В течение первого года после ЧКВ 38 пациентов (18 женщин и 20 мужчин) перенесли MACE, включая 1 сердечную смерть (3,0%), инсульт (3,0%), рецидив стенокардии (40,0%), повторную КГ и/или ЧКВ (14,0%), госпитализации по поводу сердечно-сосудистых заболеваний (40,0%). Тип личности Д был выявлен у 37 больных, не выявлен – у 54 пациентов. При анализе сердечно-сосудистых событий в группе больных с типом личности Д выявлена значимо большая частота, как в целом MACE (54,1% против 33,3%, p = 0,0489), так и частота госпитализаций в частности (29,7% против 7,4%, p = 0,004), по сравнению с больными без типа личности Д (рисунок 1).



Примечания: ЧКВ - чрескожное коронарное вмешательство, КАГ - коронарография, ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания.

Рисунок 1. Анализ неблагоприятных событий в течение года после ЧКВ

Средние баллы по подшкалам опросников DS-14 и WCQ среди всей когорты обследованных представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сравнительный анализ исходных данных анкетирования пациентов с MACE и без него через 1 год после ЧКВ

Показатель	Группа 1 без MACE (n = 53)	Группа 2 с MACE (n = 38)	p
DS-14			
Негативная возбудимость (NA), баллы	10,32±4,41	11,13±4,92	0,361
Социальное подавление (SI), баллы	9,81±3,91	10,36±3,76	0,529
HADS			
Личностная тревожность, баллы	6,07±3,11	6,16±3,17	0,961
Уровень депрессии, баллы	4,85±3,43	4,97±3,75	0,991
Копинг-стратегий (WCQ)			
Конфронтация, баллы	9,6±4,0	10,91±2,67	0,187
Дистанцирование, баллы	10,94±3,75	10,83±3,22	0,665
Самоконтроль, баллы	12,85±3,58	12,75±3,85	0,908
Поиск социальной поддержки, баллы	11,94±4,17	11,73±3,63	0,634
Принятие ответственности, баллы	8,53±2,81	8,51±2,28	0,996
Избегание, баллы	12,26±4,18	12,43±3,89	0,738
Планирование решения проблем, баллы	13,01±3,34	13,91±2,96	0,219
Положительная переоценка, баллы	12,91±3,87	13,37±3,89	0,478

Примечания: WCQ -Ways of Coping Questionnaire, DS-14 – опросник для определения типа личности Д; HADS – Hospital Anxiety and Depression Scale; NA – негативная возбудимость, SI – социальное подавление

Статистически достоверной разницы достигнуто не было, однако в группе с MACE прослеживалась тенденция к более высоким показателям негативной возбудимости, социального подавления.

Средние значения подшкал копинг-стратегий также ни по одной шкале не различались в группах с наличием/отсутствием MACE. Отличия были выявлены при выделении частоты использовании той или иной стратегии преодоления стресса. Так, больные в группе с благоприятным прогнозом чаще применяли редкое использование стратегии конфронтации (без MACE 24,5%, против с MACE 2,7%; p=0,0049), а больные с неблагоприятным прогнозом предпочитали умеренное использование стратегии конфронтации (с MACE 78,4% против без MACE 50,9%; p = 0,0082). (рисунок 3).

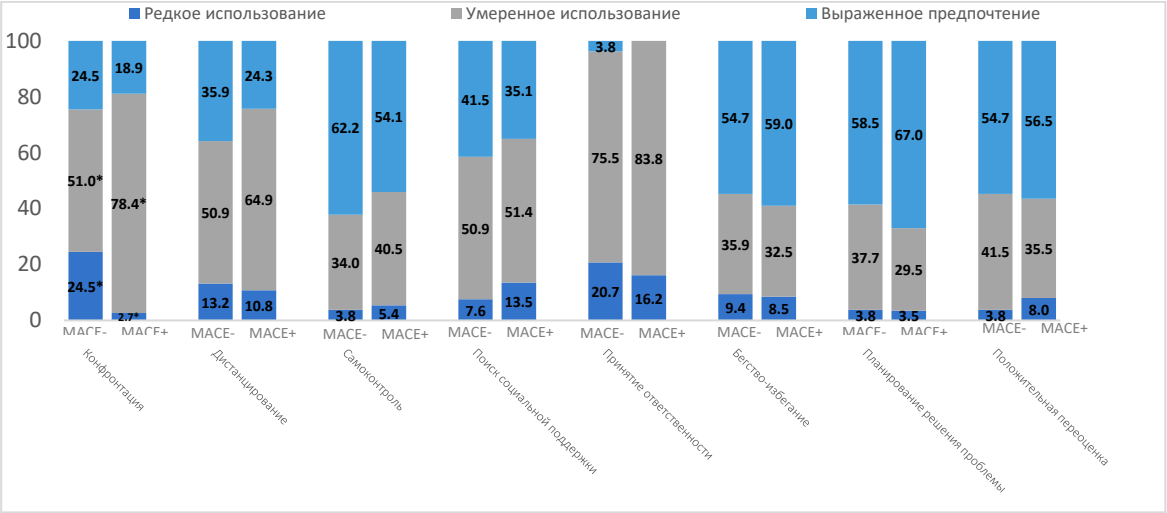


Рисунок 2. Распределение копинг-стратегий у пациентов с ИБС с MACE и без него через 1 год после ЧКВ (согласно опроснику WCQ)

Анализ субъективной оценки ТЖС показал, что ведущей когнитивной оценкой трудности ситуации в группах сравнения явилась необходимость быстрого реагирования (16,2±4,96 баллов у больных без MACE; 15,81±4,61 баллов у пациентов с MACE). У больных с MACE были статистически достоверно ниже показатели сильных эмоций (11,92±5,32 балла против 14,62±4,83 балла, соответственно, p = 0,005) и перспективы бедующего (11,36±3,81 балла против 13,21±3,41 балла, соответственно, p = 0,015), чем у больных без MACE (таблица 2).

Таблица 2. Сравнительный анализ данных опросника "Когнитивная оценка трудной жизненной ситуации" в группах пациентов с наличием/отсутствием MACE

Показатель	Группа 1 без MACE (n=53)	Группа 2 с MACE (n=38)	p
Общие признаки сложных жизненных ситуаций, баллы	16,1±4,9	14,94±5,06	0,108
Отсутствие контроля над ситуацией, баллы	10,38±4,49	10,86±4,84	0,746
Непонятность ситуации, баллы	16,0±7,01	14,42±6,75	0,293
Необходимость быстрого, активного реагирования, баллы	16,2±4,96	15,81±4,61	0,688
Трудности в принятии решения, баллы	14,9±4,71	13,39±5,21	0,108

Трудности в прогнозировании ситуации, баллы	10,54±4,41	9,36±4,22	0,234
Сильные эмоции, баллы	14,62±4,83	11,92±5,32	0,005
Перспектива на будущее, пункты	13,21±3,41	11,36±3,81	0,015

Обсуждение

Исследование показало, что у пациентов с ИБС и типом личности Д, в отличие от пациентов без типа Д, в течение года после ЧКВ вероятность развития MACE и госпитализаций по поводу ССЗ была выше. В группе с неблагоприятным прогнозом чаще выявляли тип личности Д, а также наблюдалось большее предпочтение умеренного использования конфронтационной стратегии совладения. При когнитивной оценке у пациентов с MACE были статистически значимо более низкие показатели сильных эмоций и перспектив на будущее, чем у пациентов без MACE.

В предыдущих исследованиях копинг-стратегий среди молодых и здоровых людей было показано, что стратегия совладания с бегством–избеганием была связана с типом личности Д, а стратегия позитивной переоценки была связана с личностью, не относящейся к типу Д [9]. У больных стабильной ИБС при проспективном наблюдении не менее 1 года тип Д был ассоциирован с худшим прогнозом [10], у больных после коронарного шунтирования — с более частым развитием сердечно-сосудистых событий в отдаленном периоде [11], у больных ХСН — с частотой повторных госпитализаций [12].

Оценка индивидуальных стратегий совладания должна быть интегрирована в разработку поведенческих вмешательств у пациентов с типом личности Д. Клиническая значимость видится нам в разработке поведенческих вмешательств, направленных на преодоление дисфункциональных ситуаций. Высказывается мнение, что тип Д связан с неадаптивным преодолением трудностей и снижением производительности, поэтому типа Д могут получить пользу от вмешательств, связанных с изменением настроения или улучшением межличностного функционирования [13]. В этом направлении также рассматривается возможное воздействие на пациентов с ИБС с типом личности Д, с целью нивелировать его известное неблагоприятное влияние на прогноз. Этот факт следует учитывать при разработке будущие вмешательства, направленные на профилактику депрессии и психических расстройств у этой категории пациентов.

Заключение

У больных ИБС в течение года после ЧКВ MACE развились в 34% случаев. В группе с неблагоприятным прогнозом, помимо более частого проявления типа личности Д, чаще встречалось умеренное использование копинг-стратегия «Конфронтация». При когнитивной оценке у пациентов с MACE показатели ниже были значения по шкалам «Сильные эмоции» и «Перспективы на будущее», чем у пациентов без MACE. Результаты данного исследования подчеркивают необходимость индивидуализированных поведенческих вмешательств у больных ИБС с проявлениями психологического дистресса. Возможность улучшения прогноза за счет таких вмешательств требует подтверждения в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Denollet, J. Personality and mortality after myocardial infarction /J. De nollet, S. U. Sys, D. L. Brutsaert //Psychosom. Med. – 1995. – V. 57. – P. 582591.
2. Dannemann S, Matschke K, Einsle F, et al. Is type-D a stable construct? An examination of type-D personality in patients before and after cardiac surgery. J Psychosom Res. 2010;69(2):101-9. doi:10.1016/j.jpsychores.2010.02.008.
3. Kupper N, Boomsma DI, de Geus EJ, et al. Nine-year stability of type D personality: contributions of genes and environment. Psychosom Med.2011;73(1):75-82. doi:10.1097/ PSY.0b013e3181fdce54.
4. van Montfort E, Kupper N, Widdershoven J, et al. Person-centered analysis of psychological traits to explain heterogeneity in patient-reported outcomes of coronary artery disease-the THORESCI study. J Affect Disord. 2018;236:14-22. doi:10.1016/j.jad.2018.04.072.
5. Lv, H.; Tao, H.;Wang, Y.; Zhao, Z.; Liu, G.; Li, L.; Yu, B.; Gao, X.; Lin, P. Impact of type D personality on major adverse cardiac events in patients undergoing percutaneous coronary intervention: The mediating role of cognitive appraisal and coping style. J. Psychosom. Res. 2020, 136, 110192.
6. Wasserman L.I., Iovlev B.V., Isaeva E.R., et al. Technique for Psychol. diagnostics of ways to cope with stressful and problematic situations for a person: A manual for doctors and medical psychologists. St. Petersburg: NIPNI them. V.M. V.M. Bekhtereva, 2009, 38. In Russian.
7. Битюцкая Е.В. Трудная жизненная ситуация: критерии когнитивного оценивания. Психологическая наука и образование. 2007;4:87-93.
8. Bityutskaya E. V., Korneev A. A. Diagnostics of coping factors: approbation of the questionnaire "Types of orientations in difficult situations". Psychological journal. 2020;41(1): 97–111. DOI: 10.31857/S020595920007902-8.

9. Sumin, A.N.; Prokashko, I.Y.; Shcheglova, A.V. Evaluation of Coping Strategies among Students with Type D Personality. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 4918.
10. Leu HB, Yin WH, Tseng WK, et al. Impact of type D personality on clinical outcomes in Asian patients with stable coronary artery disease. J Formos Med Assoc. 2019;118(3):721-9. doi:10.1016/j.jfma.2018.08.021.
11. Сумин А. Н., Райх О. И., Гайфулин Р. А., и др. Предрасположенность к психологическому дистрессу у больных после коронарного шунтирования: взаимосвязь с годовым прогнозом. Кардиология. 2015;55(10):76-82.
12. Lin TK, You KX, Hsu CT, et al. Negative affectivity and social inhibition are associated with increased cardiac readmission in patients with heart failure: A preliminary observationstudy. PLoS One. 2019;14(4):e0215726. doi:10.1371/journal.pone.0215726.
13. Borkoles E, Kaiseler M, Evans A, et al. Type D personality, stress, coping and performance on a novel sport task. PLoS One. 2018;13(4): e0196692. doi:10.1371/journal.pone.0196692

ОТДАЛЕННЫЕ ИСХОДЫ ИНФАРКТА МИОКАРДА У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

М.Г. Чащин[1], А.Ю. Горшков[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, г.Москва

Резюме

Цель работы. Изучение отдаленных исходов инфаркта миокарда (ИМ) в течение трехлетнего периода наблюдения у пациентов, перенесших COVID-19.

Материалы и методы. Представлены результаты ретроспективного анализа данные 349 пациентов, получивших лечение по поводу ИМ в период с июля 2020 г по март 2021 г. Всем пациентам проведен полный объем диагностических и лечебных мероприятий в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом и без подъема сегмента ST. Информация о пациентах извлекалась из госпитального регистра для последующего детального анализа.

Жизненный статус пациентов в отдаленном периоде уточнялся в ходе телефонного интервью с пациентом или с его ближайшим родственником, а также по данным ЕМИАС.

Результаты. Ранее COVID-19 перенесли 43,0% (n=150). Медиана времени от появления симптомов COVID-19 до развития ИМ составила 59,0 [42,0; 83,8] дней. Средний возраст больных 63,5± 12,6 лет, подавляющее большинство составляли мужчины 63,0% (n=220). Доля больных с ИМ без подъема ST в группе, переносивших ранее COVID-19, была статистически значимо больше по сравнению с группой без COVID-19 в анамнезе (p=0,0015). У пациентов, перенесших ранее COVID-19, отмечался более высокий уровень С-реактивного белка (СРБ) по сравнению с пациентами без COVID-19 (p<0,0001), более высокая скорость клубочковой фильтрации (СКФ) (p=0,0366). По основным клиническим и анамнестическим характеристикам обе группы были сопоставимы (p>0,05). Летальность в отдаленном периоде в группе больных, переносивших COVID-19, составила 29,3% (n=44), среднее время выживания 29,8 ± 1,2 мес, тогда как в группе без COVID-19 – 12,6% (n=25), средняя выживаемость 34,9 ± 1,3 мес (p<0,0001). Перенесенный COVID-19 ассоциировался с увеличением риска летального исхода в постинфарктном периоде в 2,8 раза (95% ДИ 1,71 – 4,63), с концентрацией СРБ – ОР 1,009 (95, ДИ 1,006 – 1,013), и СКФ – ОР 0,975 (95% ДИ 0,959 – 0,990).

Заключение. Пациенты с ИМ, ранее переносившие COVID-19, характеризовались более коротким временем общей выживаемости. Риск летального исхода значимо ассоциировался с предшествующей инфаркту инфекцией COVID-19, уровнем СРБ и СКФ.
Ключевые слова: Отдаленные исходы инфаркта миокарда, COVID-19 и сердечно-сосудистые осложнения, долгосрочные последствия COVID-19

Список сокращений: COVID-19 - COronaVIrus Disease 2019; GRACE – Global Registry of Acute Coronary Events; АКШ – аорто-коронарное шунтирование; ЕМИАС – Единая медицинская информационно-аналитическая система; ИМ – инфаркт миокарда; ИМТ – индекс массы тела; СКФ – скорость клубочковой фильтрации (MDRD); СРБ – С-реактивный белок; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка;

Введение

В последние годы мировое медицинское сообщество столкнулось с беспрецедентным вызовом – пандемией COVID-19, оказавшей значительное влияние на все аспекты системы здравоохранения [1]. Особое внимание заслуживает изучение отдаленных последствий COVID-19, в том числе таких сердечно-сосудистых осложнений, как инфаркт миокарда (ИМ) [2]. Актуальность данной темы обусловлена значительным ростом числа пациентов, перенесших как COVID-19, так и ИМ в постковидном периоде [3]. ИМ – одна из ведущих причин смертности во всем мире, а факт ранее перенесенного COVID-19 и тяжесть течения инфекции обуславливает выделение новой субпопуляции пациентов, характеризующихся потенциально уникальной траекторией заболевания и исходами [4]. Опубликованные данные указывают, что персистирующий воспалительный процесс, эндотелиальная дисфункция и повышенный риск тромбоза, обусловленные COVID-19, могут оказывать долгосрочное воздействие на сердечно-сосудистую систему: увеличивать риск развития сердечной недостаточности, аритмий, повторных ишемических событий и летального исхода [4–6].

Несмотря на значительный прогресс в ранней диагностике и тактике ведения пациентов с ИМ, добавление фактора перенесенного COVID-19, потенциально способно значительно модифицировать существующие прогностические модели и потребовать переосмысления существующих стратегий вторичной профилактики. Предварительные данные указывают на то, что пациенты, перенесшие ИМ в сочетании с COVID-19, имеют более высокий 6-ти месячный риск развития осложнений и более высокую летальность по сравнению с пациентами, перенесшими ИМ без предшествующего COVID-19 [7].

В этой связи, целью данного исследования являлось сопоставление отдаленных исходов ИМ в течение трехлетнего периода наблюдения у пациентов, перенесших COVID-19, по сравнению с пациентами без COVID-19 в анамнезе.

Материалы и методы

В ретроспективный анализ включены данные 349 пациентов, получивших лечение по поводу ИМ в период с июля 2020 г по март 2021 г в условиях регионального сосудистого центра ГКБ им В.П. Демихова г. Москвы. Всем пациентам проведен полный объем диагностических и лечебных мероприятий в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом и без подъема сегмента ST. С целью оценки степени поражения коронарных артерий, всем больным выполнялась селективная коронароангиография, а также чрескожные коронарные вмешательства по показаниям. Информация о пациентах извлекалась из госпитального регистра ОКС, все записи, внесенные в электронную медицинскую карту ЕМИАС (Единая медицинская информационно-аналитическая система), подвергались детальному анализу. Жизненный статус пациентов в отдаленном периоде уточнялся в ходе телефонного интервью с пациентом или с его ближайшим родственником, а также по данным ЕМИАС.

Статистический анализ данных проводился с использованием программ Excel 2016 («Microsoft», США) и JMP Pro 17 ("SAS", США"). Для проверки соответствия распределения непрерывных данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова с коррекцией Лильефорса. Количественные показатели, соответствующие нормальному распределению, описывались в виде средней и стандартного отклонения (M±SD), в противном случае – в виде медианы и квартилей (Me [Q1; Q3]). Качественные показатели – в виде относительных и абсолютных величин – n (%). Значимость различий между исследуемыми группами оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни и χ^2 Пирсона. Для анализа выживаемости в группах применялся метод Каплана-Майера, оценка различия между полученными кривыми осуществлялась при помощи логрангового критерия. Изучение ассоциации факторов с летальным исходом выполнялась в модели пропорциональных рисков Кокса с определением отношения рисков (ОР) и 95% доверительного интервала (ДИ). Статистическая значимость определялась при уровне $p<0,05$.

Результаты

Отдаленные исходы установлены у 349 пациентов, включенных в настоящее исследование. Ранее COVID-19 перенесли 43,0% (n=150), из них 62,6% (n=94) отмечали симптомное течение

инфекции. Медиана времени от появления симптомов COVID-19 до развития ИМ составила 59,0 [42,0; 83,8] дней.

В изученной когорте ИМ без подъема сегмента ST (ИМбпST) регистрировался у 53,6% (n=187) пациентов, а ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST) у 46,4% (n=162) пациентов. На рисунке 1 представлено распределение больных по типу ИМ в зависимости от перенесенного ранее COVID-19. Доля больных с ИМбпST в группе, переносивших ранее COVID-19, была статистически значимо больше по сравнению с группой без COVID-19 в анамнезе (p=0,0015).

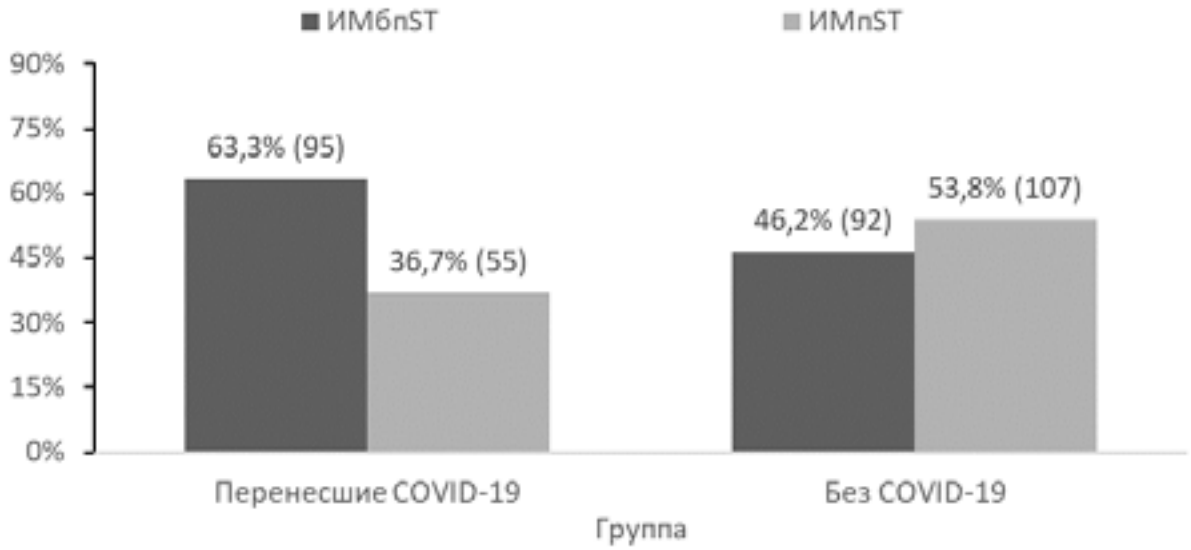


Рисунок 1. Распределение пациентов по типу ИМ в зависимости от перенесенного ранее COVID-19

В таблице 1 представлены характеристики пациентов исследуемых групп. Средний возраст больных 63,5± 12,6 лет, подавляющее большинство составляли мужчины 63,0% (n=220). Пациенты перенесшие ранее COVID-19, имели более высокий уровень С-реактивного белка (СРБ) по сравнению с пациентами без COVID-19 (19,10 [7,50; 53,00] мг/л против 7,60 [1,98; 17,40] мг/л, p<0,0001), а также более высокой скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) (47,29 [39,04; 55,42] мл/мин/1,73м^2 против 43,28 [33,19; 53,04] мл/мин/1,73м^2, p=0,0366). По основным демографическим характеристикам, сопутствующей патологии, тяжести явлений острой сердечной недостаточности, величине фракции выброса левого желудочка, суммарному баллу по шкале GRACE обе изученные группы оказались сопоставимы (p>0,05).

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов в исследуемых группах

Показатель	Перенесшие COVID-19 (n=150)	Без COVID-19 (n=199)	Уровень P
Возраст, лет*	62,23 ± 12,35	64,45 ± 12,81	0,1156
ИМТ, кг/м^2*	30,87 ± 4,45	30,38 ± 4,70	0,1903
Мужской пол, n (%)	88 (58,7%)	132 (66,3%)	0,1420
Повторный ИМ, n (%)	47 (31,3%)	53 (26,6%)	0,3364
АКШ, n (%)	1 (0,7%)	5 (2,5%)	0,1891
Сахарный диабет, n (%)	45 (30,0%)	55 (27,6%)	0,6290
GRACE 1.0, баллы†	150,0 [130,0; 164,0]	150,0 [131,0; 171,5]	0,3656
Killip III – IV, n (%)	11 (7,3%)	9 (4,5%)	0,2641
Тропонин I, нг/мл†	4,65 [1,80; 11,50]	2,82 [1,32; 10,10]	0,2341
СРБ, мг/л†	19,10 [7,50; 53,00]	7,60 [1,98; 17,40]	**<0,0001**
Гемоглобин, г/л†	137,0 [124,25; 147,0]	141,0 [129,0; 151,0]	0,0589
Креатинин, мкмоль/л†	89,35 [76,25; 104,50]	94,10 [80,32; 107,57]	0,1241
Мочевина, ммоль/л†	5,70 [4,50; 7,40]	6,25 [4,93; 7,70]	0,0501
Глюкоза, ммоль/л†	7,08 [6,10; 9,83]	7,90 [6,10; 10,10]	0,2160
Калий, ммоль/л†	4,20 [4,00; 4,60]	4,30 [3,90; 4,60]	0,6068
СКФ, мл/мин/1,73м^2†	47,29 [39,04; 55,42]	43,28 [33,19; 53,04]	**0,0366**
ФВ ЛЖ, %†	50,0 [42,0; 55,0]	47,0 [43,0; 55,0]	0,1591
Длительность госпитализации, дней†	7,85 ± 3,45	8,18 ± 3,45	0,5359

Примечание: * -данные представлены в виде M±SD; † - данные представлены в виде Me [Q1; Q3]; GRACE – Global Registry of Acute Coronary Events; АКШ – аорто-коронарное шунтирование; ИМ – инфаркт миокарда; ИМТ – индекс массы тела; СКФ – скорость клубочковой фильтрации (MDRD); СРБ – С-реактивный белок; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка;

В результате проведенного анализа выживаемости в течение срока наблюдения, установлено, что среди пациентов, переносивших COVID-19, летальность составила 29,3% (n=44), тогда как среди пациентов без COVID-19 зарегистрировано 12,6% (n=25) случаев летального исхода.

Общее среднее время выживания для всех изученных пациентов составило 32,8 ± 1,0 мес. Средняя выживаемость в группе пациентов, перенесших COVID-19, составила 29,8 ± 1,2 мес,

медиана не достигнута. Средняя выживаемость в группе пациентов без COVID-19 составила 34,9 ± 1,3 мес, медиана составила 40,1 мес. Различие между полученными кривыми являлись статистически значимыми (logrank test, p<0,0001).

Риск летального исхода для пациентов, перенесших COVID-19, относительно группы без COVID-19, составил ОР 2,89 (95% ДИ 1,77 – 4,70). Результаты однофакторного регрессионного анализа в модели пропорциональных рисков Кокса представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты однофакторного регрессионного анализа предикторов, ассоциированных с летальным исходом в отдаленном периоде ИМ

Фактор	*ОР*	*95% ДИ*	*p-value*
Перенесенный COVID-19	2,816	1,713 – 4,637	**<0,0001**
Диагноз ИМпST	1,128	0,702 – 1,816	0,6176
СРБ	1,009	1,006 – 1,013	**<0,0001**
Тропонин I	1,013	0,991 – 1,036	0,2476
СКФ	0,975	0,959 – 0,990	**0,0018**

Перенесенный COVID-19 ассоциировался с увеличением риска летального исхода в постинфарктном периоде в 2,8 раза (95% ДИ 1,71 – 4,63). Уровень СРБ и СКФ являлись значимыми факторами риска летального исхода. Повышение концентрации СРБ на 1 мг/л сопровождалось увеличением риска летального исхода в отдаленном периоде на 0,9%, тогда как при снижении СКФ на 1 мл/мин/1,73м^2 риск летального исхода возрастал на 2,6%. Диагноз ИМпST и уровень тропонина I не оказывал существенного влияния на риск летального исхода в изученной когорте больных (p>0,05).

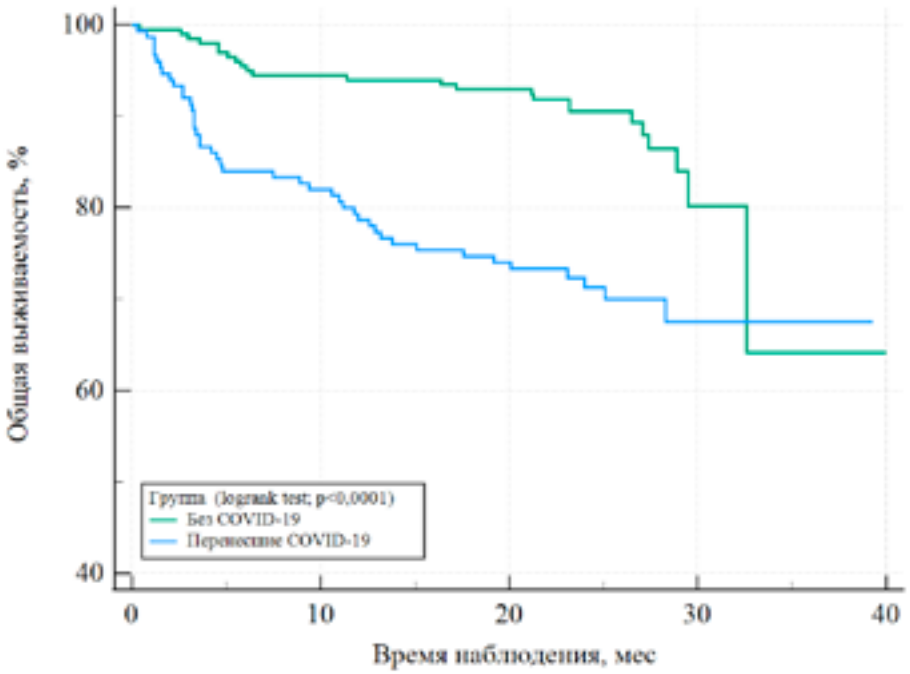


Рисунок 2. Кривые Каплана-Майера, характеризующие общую выживаемость пациентов в изучаемых группах

Заключение

Пациенты с ИМ, ранее переносившие COVID-19 характеризуются худшей выживаемостью в течение 3 лет по сравнению с группой пациентов без COVID-19 в анамнезе. Риск летального исхода значимо ассоциирован с предшествующей инфаркту инфекцией COVID-19, уровнем СРБ в остром периоде ИМ, а также СКФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chauhan A.S., Singh K., Bhatia R., Khetrapal S., Naskar A. Health System's Response and Impact of COVID-19 on Health Services, Providers, and Seekers: A Rapid Review at the Wake of the Pandemic, 2023.
2. Tedeschi D., Rizzi A., Biscaglia S., Tumscitz C. Acute myocardial infarction and large coronary thrombosis in a patient with COVID-19 // Catheterization and Cardiovascular Interventions, 2020, P. ccd.29179.
3. Arai R., Nobuhiro M., Kojima K., Iida K., Kitano D., Fukamachi D., Watanabe Y., Matsumoto M., Matsumoto N., Hirata S., Nomoto K., Sasa Y., Tachibana E., Arai M., Arima K., Haruta H., Okumura Y. Impact of the COVID-19 pandemic on the hospitalizations, time course, presenting symptoms, and mid-term outcomes in patients with myocardial infarctions in a Japanese multi-center registry // Heart and Vessels, 2023, T. 38, № 4, C. 459-469.
4. Zuin M., Rigatelli G., Battisti V., Costola G., Roncon L., Bilato C. Increased risk of acute myocardial infarction after COVID-19 recovery: A systematic review and meta-analysis // International Journal of Cardiology, 2023, T. 372, C. 138-143.
5. Comerma-Steffensen S., Risso A., Ascanio-Evanoff E., Zerpa H. Endothelium-dependent relaxation mechanisms involve nitric oxide and prostanoids in the isolated bovine digital vein // Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2019, T. 42, № 3, C. 361-367.
6. Ramadan M.S., Bertolino L., Zampino R., Durante-Mangoni E., Iossa D., Ursi M.P., D'Amico F., Karruli A., Ramadan M., Andini R., Bernardo M., Ruocco G., Dialetto G., Covino F.E., Manduca S., Della Corte A., De Feo M., De Vivo S., De Rimini M.L., Galdieri N. Cardiac sequelae after coronavirus disease 2019 recovery: a systematic review // Clinical Microbiology and Infection, 2021, T. 27, № 9, C. 1250-1261.
7. Чащин М.Г., Горшков А.Ю., Драпкина О.М. Предикторы летального исхода в течение 6 месяцев после инфаркта миокарда без подъема сегмента ST у пациентов, перенесших COVID-19. // Профилактическая медицина, 2022, Т. 25, № 4, С. 47-54.

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Пашутин Виктор Васильевич (1845–1901)

«Люди, запертые в помещении без каких-либо раздражителей начинают кидаться на стены, постепенно достигая состояния сумасшествия»

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК КАК ВОЗМОЖНЫЙ АГЕНТ, ВЫЗЫВАЮЩИЙ «ЭФФЕКТ СВИДЕТЕЛЯ» *IN VIVO* ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

С.А. Абдуллаев*, М.В. Душенко, Д.В. Фомина

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

**e-mail*: saabdullaev@gmail.com

Введение. На сегодняшний день в радиобиологии общепризнанна следующая парадигма: биологические эффекты в облученных клетках возникают при прямом попадании в эти клетки пучков частиц, несущих энергию и повреждающих внутриклеточные структуры, главным образом ДНК. Однако к настоящему моменту это представление ставится под сомнение, в том числе и потому что существуют так называемые «немишенные эффекты», проявляющиеся в клетках, которые не были облучены напрямую. Такие явления получили прочно закрепившееся название «эффект свидетеля» (англ. Bystander effect). В настоящий момент известно уже многое о механизмах передачи и развития этого эффекта. Однако большинство исследователей изучают данный эффект in vitro, в то время как на уровне целого организма «эффект свидетеля» изучен слабо. Важность такого рода исследований обусловлена необходимостью оценки риска последствий радиационного воздействия и разработки более эффективных методов радиотерапии.

Мы полагаем, что фактором, индуцирующим «эффект свидетеля» может быть внеклеточная митохондриальная ДНК (мтДНК), которая, как было показано нами, выходит при облучении из клеток в межклеточное пространство, кровяное русло и мочу [1-7].

В силу своего бактериального происхождения, митохондрии и мтДНК имеют ряд ключевых особенностей, отличающих их от остальных органелл и молекул организма. В частности, показано, что митохондрии, вышедшие в кровяное русло, вызывают в организме воспалительный процесс, очень похожий на воспаление при бактериальной инфекции. Однако имеющихся в литературе данных недостаточно для точного заключения о роли митохондрий и мтДНК в развитии «эффекта свидетеля».

В связи с этим целью настоящей работы является определение изменений в мтДНК на уровне целого организма (*in vivo*), после локального воздействия рентгеновского излучения. В данной работе были использованы следующие

параметры: измерение копийности мтДНК в клетках тканей, а также измерение уровня экспрессии митохондриальных генов.

Материалы и методы. Работа проводилась на лабораторных мышах линии *BALB/c* из питомника института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Только на головы мышей было направлено ионизирующее излучение в дозе 5 Гр (мощность 2,5 Гр/мин). Туловища были защищены от воздействия рентгеновского излучения свинцовым экраном толщиной 5 см. Для того, чтобы животные во время облучения не перемещались, мышам вводили внутримышечно препарат «домитор» в дозировке 0,06 мг/кг массы тела. Его действующее вещество - медетомидин - a2-агонист, основной эффект которого заключается в торможении передачи нервных импульсов в адренергических синапсах за счет конкуренции с норадреналином. Под действием препарата животное теряет способность к перемещению, за счет расслабления мускулатуры. После облучения, животным внутримышечно вводился препарат «антиседан» в дозировке 0,06 мг/кг, нейтрализующий действие медетомидина. Контрольные животные не подвергались облучению, но при этом им вводились оба вышеназванных препарата в той же последовательности и дозировке, что и подопытным животным.

Извлеченные из животных ткани гомогенизировались на льду, после чего масса гомогената разделялась на две части, для выделения ДНК и РНК, соответственно. Кровь собиралась отдельно, после чего ядросодержащие клетки крови разделялись на фракции гранулоцитов и моноцитов методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности диаколла-1077. Выделение ДНК проводилось с помощью реагента для выделения ДНК DNAzol (Invitrogen, USA). РНК из гомогената тканей, а также из ядросодержащих клеток крови, выделялась с использованием реагента для выделения тотальной РНК из клеток и тканей RNAzol (Invitrogen, USA). Синтез первой цепи кДНК осуществлялся на основе коммерческих наборов фирмы Евроген (Россия). Оценка числа копий мтДНК и экспрессии митохондриального гена *ATP6*, проводилась методом ПЦР в реальном времени, с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time System. Результаты рассчитывались с помощью программного обеспечения фирмы Applied Biosystems, относительно ядерной ДНК, с использованием в качестве внутреннего контроля однокопийного ядерного гена *GAPDH*.

Результаты исследования и их обсуждение

Нами получены данные об изменении копийности мтДНК в моноцитах и гранулоцитах крови, а также в клетках головного мозга, сердца, печени и селезенки мышей, подвергшихся облучению головного мозга в дозе 5 Гр.

Результаты показали, что в моноцитах крови мышей, подвернутых облучению головного мозга в дозе 5 Гр, количество транскриптов митохондриального гена *ATP6* в 2-3 раза превышало контрольный уровень (от 3 до 14 суток с момента облучения). Максимальное относительное количество транскриптов гена *ATP6* наблюдалось на 3 сутки с момента облучения. Однако через 21 и 30 дней, относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижалось ниже контрольного.

В другой фракции ядросодержащих клеток крови – гранулоцитов, также наблюдалось увеличение относительного количества транскриптов гена *ATP6*, однако гораздо более выраженное. Уже через 24 часа с момента облучения, относительное число копий митохондриального гена *ATP6*, было выше контрольного в 12 раз. Максимальное значение этого параметра наблюдалось на 14 сутки с момента облучения, и в этот момент превышало контрольный уровень в 25 раз. Через 21 день относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижалось до контрольного уровня, а через 30 дней опускалось ниже контрольного.

Вместе с тем, относительное количество копий мтДНК как в моноцитах, так и в гранулоцитах, через 24 часа с момента облучения, понижалось, становясь примерно в 2-3 раза ниже контрольного уровня. Сниженное количество копий мтДНК сохранялось в ядросодержащих клетках крови на протяжении 14 дней с момента облучения, на 21 и 30 день восстанавливалось до контрольного уровня.

В клетках головного мозга мышей через 72 часа после облучения в дозе 5 Гр среднее число транскриптов митохондриального гена *ATP6*, содержащихся в одной клетке, увеличивалось в 2,5 раза относительно контрольных значений. Далее относительное число митохондриальных транскриптов снижалось, возвращаясь к контрольному уровню через 20 дней с момента облучения.

Проводились анализы относительного изменения копийности транскриптов митохондриального гена *ATP6* в клетках печени, сердца и селезенки у мышей, подвергшихся дифференцированному облучению головного мозга в дозе 5 Гр. Несмотря на то, что эти органы не подвергались непосредственному воздействию рентгеновского излучения, транскрипция митохондриальной ДНК в них увеличивалась

также, как и в подвергавшемся облучению головном мозге. Существовали небольшие различия между различными тканями (например в сердце максимальное относительное число транскриптов гена *ATP6* приходилось на 7 сутки, тогда как в головном мозге, печени и селезенке максимум приходился на 72 часа с момента облучения), однако общая направленность наблюдаемого процесса не вызывала сомнений. Также общим для всех исследованных тканей являлось то, что к 30 суткам с момента облучения относительное число транскриптов митохондриального гена *ATP6* возвращалось к контрольному значению. Для наглядности, результаты относительного изменения количества транскриптов митохондриального гена *ATP6* в исследованных тканях после локального облучения головы мышей, сводились вместе.

Далее были получены результаты количественного измерения относительного числа копий мтДНК в клетках мозга, подвергшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения. Данные этих анализов показали, что количество копий мтДНК через 24 часа после облучения увеличивалось в 10 раз, по сравнению с контролем. Однако позже количество копий мтДНК резко снижалось, примерно в 3-4 раза ниже контрольного значения, вплоть до окончания наблюдений через 30 суток. В сердце и печени такого эффекта не наблюдалось, число копий мтДНК в их клетках увеличивается. Максимальное количество мтДНК в клетках печени наблюдалось через 21 день с момента облучения, при этом оно превышало контрольный уровень в 10 раз. В сердце максимальное количество мтДНК наблюдалось через 14 дней с момента облучения, количество копий мтДНК превышало контрольный уровень в 14 раз. Через 30 дней после облучения, количество копий мтДНК в сердце и печени мышей возвращалось к контрольному уровню.

Заключение. Таким образом, полученные результаты говорят о том, что даже в клетках органов мышей, не подвергавшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения, наблюдаются значительные изменения копийности как самой мтДНК, так и относительного числа транскриптов ее гена – *ATP6*. Эти изменения сохраняются на протяжении значительного срока после облучения, вплоть до трех недель, что позволяет говорить о том, что наблюдаемые изменения обусловлены возникновением «эффекта свидетеля», возникшего после локального облучения головного мозга рентгеновским излучение в дозе 5 Гр.

Исследования выполнены при поддержке РНФ (проект № 24-24-00446).

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев, С.А. Мутантные копии митохондриальной ДНК в тканях и в плазме мышей, подвергнутых воздействию рентгеновским излучением / С.А. Абдуллаев, Е.С. Анищенко, А.И. Газиев. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – Т. 50, № 3. – С. 318–328.

2. Mutant copies of mitochondrial DNA in tissues and plasma of mice subjected to X-ray irradiation / S.A. Abdullaev [et al.] // Biophysics. – 2010. – Vol. 55 (5). – P. 840–847.

3. Cell-free DNA in the urine of rats exposed to ionizing radiation / S.A. Abdullaev [et al.] // Radiation and Environmental Biophysics. – 2015. – Vol. 54. – P. 297 – 304.

4. X-rays and metformin cause increased urinary excretion of cell-free nuclear and mitochondrial DNA in aged rats / A. Gaziev [et al.] // Journal of Circulating Biomarkers. – 2016. – Vol. 3. – P. 1–8.

5. Metformin prolongs survival rate in mice and causes increased urinary excretion of cell-free DNA in X-irradiated rats / S. Abdullaev [et al.] // Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2018. – Vol. 831. – P. 13–18.

6. Минкабирова Г.М. Увеличение содержания внеклеточной ядерной и митохондриальной ДНК в моче крыс после рентгеновского облучения или введения блеомицина / Г.М. Минкабирова, С.А. Абдуллаев // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2019. – Т. 64, № 5. – С. 5–8.

7. Абдуллаев С.А. Защитные свойства АИКАР in vivo при радиационном воздействии / С.А. Абдуллаев, Д.В. Салеева, М.В. Душенко, Н.Ф. Раева, А.И. Абдуллаева, Г.Д. Засухина, А.Н. Осипов // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2023. – Т. 68, № 5. – С. 5–10.

MITOCHONDRIAL DNA AS A POSSIBLE AGENT CAUSING THE "BYSTANDER EFFECT" *IN VIVO* AFTER RADIATION EXPOSURE

S.A. Abdullaev*, M.V. Dushenko, D.V. Fomina

N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia

**e-mail*: aabdullaev@gmail.com

Abstract:

Currently, the established paradigm in radiobiology suggests that the biological effects of irradiated cells occur when these cells are directly targeted by beams of particles carrying energy, primarily affecting intracellular structures such as DNA. However, this paradigm has been challenged by the recognition of non-target effects, also known as the "bystander effect", which manifest in cells not directly exposed to radiation. While much is understood about the mechanisms underlying this effect at the cellular level, its implications at the organismal level remain poorly studied. Investigating the "bystander effect" is crucial for assessing the risks associated with radiation exposure and developing more effective radiotherapy strategies.

We hypothesize that extracellular mitochondrial DNA (mtDNA) may act as a key factor inducing the bystander effect. Our research has demonstrated that mtDNA is released from cells into the intercellular space, bloodstream, and urine following irradiation.

Mitochondria and mtDNA, with their bacterial origins, possess unique characteristics distinguishing them from other cellular organelles and molecules. Previous studies have indicated that circulating mitochondria trigger an inflammatory response akin to that observed during bacterial infections. However, existing literature lacks sufficient evidence to conclusively establish the role of mitochondria and mtDNA in the bystander effect.

Thus, the objective of this study was to assess changes in mtDNA at the organismal level (in vivo) following localized X-ray radiation exposure. Parameters evaluated included mtDNA copy number in tissue cells and the expression levels of mitochondrial genes.

Our findings reveal significant alterations in mtDNA copy number and the expression of the ATP6 gene in organ cells of mice not directly exposed to X-ray radiation. These changes persist for up to three weeks post-irradiation, indicating the presence of a bystander effect subsequent to local brain irradiation with 5 Gy X-rays.

Keywords: Bystander effect, DNA repair, mitochondrial DNA, gene expression, micronuclei, cell-free DNA, X-irradiation

БИОМАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И СЕРДЕЧНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА У ПАЦИЕНТОВ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

В.А. Алексеев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, г. Москва, Российская Федерация

Алексеев Владимир Андреевич – аспирант отделения болезней обмена веществ и диетотерапии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». bobobalex_95@mail.ru

https://orcid.org/0000-0002-7646-5280

Сахарный диабет (СД) 2 типа - хроническое заболевание обмена веществ, представляющее значительную угрозу для здоровья населения во всем мире. Нарушение углеводного обмена при СД 2 типа тесно связано с хроническим воспалением. Многочисленные сосудистые осложнения являются основной причиной инвалидизации и смертности при этом заболевании.

Целью исследования: оценка показателей хронического воспаления с антропометрическими и биохимическими показателями у пациентов СД 2 типа.

Материалы и методы: В исследование было включено 55 пациентов СД 2 типа и 58 пациентов с ожирением 1-3 степени без сахарного диабета. Пациенты СД 2 типа получали стандартную схему пероральных сахароснижающих препаратов, гиполипидемическую и гипотензивную терапию по показаниям. Всем пациентам исследовались антропометрические показатели (рост, масса тела, индекс массы тела), показатели углеводного и липидного обмена, а также маркеры хронического воспаления. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы SPSS 23.0.

Результаты: выявлен ряд корреляционных взаимосвязей между биомаркерами воспаления и клинико-метаболическими показателями, характеризующими состояние углеводного, липидного обмена, антропометрические показатели у пациентов СД 2 типа. Уровень высокочувствительного С-реактивного белка был почти вдвое выше у пациентов СД 2 типа по сравнению с пациентами с ожирением (11,1 ±2,58 мг/л и 6,77 ±1,11 мг/л соответственно).

Выводы: выявлена четкая взаимосвязь между маркерами воспаления и кардиометаболическими нарушениями у пациентов СД 2 типа. Влияние на показатели хронического воспаления может стать дополнительным терапевтическим звеном при лечении пациентов СД 2 типа.

Ключевые слова: воспаление, С-реактивный белок, сахарный диабет 2 типа.

Финансирование. Исследование проводилось по результатам диссертационной работы Алексеева В.А. «Разработка системы диетической коррекции нарушений антиоксидантного статуса и эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом 2 типа».

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

Введение: Сахарный диабет 2 типа (СД2) является наиболее актуальной проблемой общественного здравоохранения 21 века. У пациентов СД2 уже на ранних стадиях выявляется высокая распространенность как макрососудистых (атеросклеротических), так и микрососудистых осложнений - ретинопатии, нефропатии и полинейропатии [1]. Нерациональное питание представляет больший риск для развития ожирения и связанного с ним СД2, приводя к глюкозо- и липотоксичности, которые повреждают не только β-клетки поджелудочной железы, но и другие ткани и органы.

В настоящее время хорошо известно, что нерациональное питание является ключевым фактором, способствующим развитию и прогрессированию СД2 и его осложнений. По подсчетам Willett W. и соавт., изменение рациона может принести существенную пользу здоровью людей в мире, предотвратив около 10,8–11,6 миллионов смертей в год, т. е. - уменьшению смертности на 19,0–23,6% [2]. По данным Ley S.H. и соавт. до 90% случаев СД2 могут быть предотвратимы при изменении образа жизни [3].

Данные Rana A. и соавт. [5] поддерживают важность оксидативного стресса и воспаления в развитии хронических неинфекционных заболеваний, а также возможность оптимизации диетологического вмешательства при помощи пищевых продуктов, обладающих антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Zhang Z. и соавт. [5] показали, что хроническая гипергликемия при СД2 приводит к нарушению митохондриального транспорта электронов и способствует выработке АФК, что вызывает повреждение митохондрий и приводит к нарушению синтеза АТФ, апоптозу и активации воспаления, способствуя прогрессированию заболевания.

Эндотелий сосудов является первой линией защиты от повышенной концентрации глюкозы и атерогенных липидов, воспалительных цитокинов и других факторов, которые способствуют развитию кардиометаболических заболеваний. Воздействие на эндотелиальную функцию, по мнению Love K.M и соавт. [6], в том числе с помощью средств, влияющих на окислительный стресс, являются перспективной стратегией для профилактики и лечения СД2 и его осложнений**.**

В настоящей статье исследуется значимость повышенных продуктов перекисного окисления в качестве биомаркеров и терапевтических мишеней при СД2, подчеркивая роль их связи с метаболическими нарушениями с целью использования как дополнительной терапевтической опции.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе отделения болезней обмена веществ и диетотерапии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»**.** В исследование было включено 55 пациентов СД2 и 58 пациентов с ожирением 1-3 степени без СД.

Критерии включения в исследование: пациенты СД2/ожирение без СД в возрасте от 30 до 70 лет, отсутствие острых или обострение хронических заболеваний, требующих интенсивного лечения; наличие информированного согласия пациентов на участие в исследовании.

Критерии исключения: возраст пациенты менее 30 лет и более 70 лет; острые или обострения хронических заболеваний, требующих интенсивной терапии; отказ пациентов от участия в исследовании.

Все пациенты получали привычную схему пероральных сахароснижающих препаратов (метформин, ингибиторы дипептидилпептидазы-4, ингибиторы натрий-глюкозных контранспортеров 2-го типа), гиполипидемическую и гипотензивную терапию по показаниям.

Всем пациентам исследовались антропометрические показатели (рост, масса тела, индекс массы тела – ИМТ).

Определение биохимических показателей (глюкоза, общий холестерин, липопротеины низкой плотности, липопротины высокой плотности, триглицериды) проведено на биохимическом анализаторе «KONELAB Prime 60i» (Termo Scientific, Финляндия).

Уровень супероксиддисмутазы в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием анти- Cu/ZnСОД моноклональных антител. Использовались коммерческие наборы для ИФА «Human Cu/ZnSOD Platinum ELISA» Affymetrix eBioscience, США.

Высокочувствительный СРБ (вчСРБ) определялся на анализаторе IMMULITE 2000i методом ИХЛА (иммунохемилюминесцентного анализа) набором hsCRP компании Siemens.

Для определения фактор некроза опухоли-α (TNF-α) использовался метод ИФА (иммуноферментного анализа) на плашке, наборы ELISA компании eBioscience, Австрия.

Статистическая обработка результатов проводилась по общепринятым методам вариационной статистики с помощью программы SPSS 23.0 для Windows. В связи с тем, что центральные тенденции и дисперсии имели нормальное и приближенно нормальное распределение, при анализе полученных результатов определяли средние значения признака (M), стандартные ошибки среднего (m), среднеквадратичные отклонения (σ). Результаты представлены в виде средних величин и стандартной ошибки средней величины (M±m).

Оценка корреляционных взаимосвязей проводилась с использованием коэффициентов линейной корреляции Пирсона (r). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

Протокол исследования был одобрен комитетом по этике Клиники лечебного питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (протокол №4 от 14.0.6.2022 г.). Предварительно от всех участников исследования было получено письменное информированное согласие.

Результаты и их обсуждение

Клиническая характеристика обследованных пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

	Ожирение (n=58)	**СД 2 типа (n=55)**	**Р-значение**
Возраст (лет)	50,6 ± 1,7	59,7 ± 1,2	0,001
Масса тела (кг)	106 ± 2,5	112,9 ± 3,7	0,009
Рост (см)	167 ± 1,1	167,9 ± 1.4	0,052
ИМТ, кг/м^2	37,9 ± 0,7	39,8 ± 1,0	0,007
Глюкоза (ммоль/л)	5,04 ± 0,07	7,7 ± 0,32	0,000
ОХС (ммоль/л)	5,38 ± 0,13	4,85 ± 0,18	0,034
ЛПНП (ммоль/л)	3,82 ± 0,11	3,31 ± 0,14	0,065
ЛПВП (ммоль/л)	1,32 ± 0,04	1,16 ± 0.03	0,258
Триглицериды (ммоль/л)	1,36 ± 0,14	1,66 ± 0,09	0,835
Индекс TyG	4,57 ± 0,03	4,9 ± 0,04	0,155
Глик. гемоглобин (%)	-	7,45 ± 0,22	-

Как следует из представленных данных (таблица 1) средний возраст включенных в исследование пациентов в группе ожирения составил 50,6±1,7 лет, тогда как в группе СД2 - 59,7±1,7 лет. Более высокий средний возраст пациентов СД свидетельствует о том, что СД2 ассоциирован с возрастом, а механизмы, приводящие к повреждению сосудов могут способствовать увеличению сосудистого возраста этих пациентов. Этот процесс может быть ускорен кумулятивным действием факторов повреждающих сосуды (артериальной гипертензией, гипергликемией, дислипидемией и др.).

Масса тела и индекс массы тела (ИМТ) были выше у пациентов СД2 (112,9 ± 3,7 кг и 39,8 ± 1,0 кг/м^2) по сравнению и пациентами с ожирением: (106 ± 2,5 кг и 37,9 ± 0,7 кг/м^2), соответственно.

По данным анамнеза, длительность СД2 составила – 10,5 ± 1,1 лет. На момент первичного обследования уровень глюкозы в крови натощак в группе ожирения составил в среднем 5,04±0,07 ммоль/л, в группе СД2 - 7,7±0,32 ммоль/л; гликированного гемоглобина (НвА1с) в группе СД – 7,45±0,22%. Следует отметить, что несмотря на большее высокий уровень гликемии у пациентов СД2, средний уровень гликемии по группе не был существенно повышен, при этом большая часть пациентов достигала целевого уровня гликемии, так и уровня НвА1с, что свидетельствует о возможностях современного комплексного лечения пациентов СД2.

При первичном исследовании показатели атерогенных липидов: уровень общего холестерина (ОХ), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), и триглицеридов были выше у пациентов с ожирением (5,38 ± 0,13 ммоль/л, 3,82 ± 0,11 ммоль/л, 1,36 ± 0,14 ммоль/л), по сравнению с пациентами СД2 (4,85 ± 0,18 ммоль/л, 3,31 ± 0,14 ммоль/л, 1,66 ± 0,09 ммоль/л), что, вероятно, связано с использованием гиполипидемической терапии у пациентов с СД2.

Всем пациентам исследовали уровень вчСРБ, TNF-α; вышеперечисленные показатели отражены в таблице 2.

Таблица 2. Параметры субклинического воспаления у пациентов с ожирением и СД2

	Ожирение (n=58)	**СД 2 типа (n=55)**	**Р-значение**
С-реактивный белок вч. (мг/л)	6,77 ±1,11	11,1 ±2,58	0,03
TNF-α (пг/мл)	18,83 ± 3,09	20,2 ± 3,38	0,287

В исследованиях показана связь между маркерами воспаления и клинико-метаболическими показателями. Одним из маркеров субклинического воспаления является вчСРБ. Как следует из таблицы 2 уровень вчСРБ почти в 2 раза выше при СД2 по сравнению с пациентами с ожирением. Существует интерес к использованию вч СРБ крови для прогнозирования неблагоприятных прогнозных исходов у больных СД2. Tian R. и соавт. [7] был проведен систематический поиск исследований в базах данных PubMed и Embase относительно связи повышенного исходного уровня СРБ со смертностью от ССЗ и смертности от всех причин. Метаанализ показал, что повышенный исходный уровень СРБ в сыворотке крови независимо связан с сердечно-сосудистой смертностью и смертностью от всех причин у пациентов с СД2.

В проведенном исследовании установлено, что у пациентов с ожирением наиболее выраженные корреляционные связи получены: уровнем ЛПНП - с глюкозой ($r=0,26$, $p<0,005$), – с уровнем TNF-α ($r=0,34$, $p<0,005$)

У пациентов с СД2 получены следующие положительные и отрицательные корреляционные взаимосвязи: между массой тела с вчСРБ ($r=0,46$, $p<0,005$).

Данные научных исследований последних лет определили субклиническое воспаление как важный патофизиологический путь развития и прогрессирования ряда хронических неинфекционных заболеваний, включая СД2 и его осложнения. Стратегия влияния на воспаление при различных патологических состояниях остается недостаточно изученной, остается открытым вопрос о пути коррекции данных нарушений. Так, соблюдение Средиземноморской диеты, включающей достаточное количество овощей, фруктов, бобовых, оливкового масла, специй, обладает противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. Gantenbein K.V. и соавт. [8] отмечают не только благоприятные эффекты Средиземноморской диеты на метаболические показатели, но и на репродуктивное и психическое здоровье.

Диета определенной направленности и содержащиеся в ней активные соединения могут воздействовать на различные стадии воспалительного процесса и окислительного стресса при различных заболеваниях. Недавние исследования Majdan M [9] показывают, что полифенольные кислоты, витамины, минералы и другие компоненты могут проявлять

противовоспалительную/антиоксидантную активность, что может иметь важное значение для поддержания здоровья и снижения риска развития хронических неинфекционных заболеваний.

Проведенное исследование свидетельствует о важной роли хронического воспаления в прогрессировании метаболических заболеваний. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что, несмотря на увеличение числа пациентов алиментарно-зависимыми заболеваниями [10], раннее выявление сопутствующих заболеваний и осложнений позволит выявить когорту пациентов, у которых комплексное лечение, нацеленное на воспаление/антиоксидантную активность будет воздействовать не только на клинико-метаболические показатели (гликемию, дислипидемию и др.), но и предотвращать/снижать скорость развития и прогрессирования сосудистых осложнений у пациентов СД2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под ред. И.И.Дедова, М.В.Шестаковой, А.Ю.Майорова. – 10-й выпуск (дополненный). – М.; 2021. doi: 10:14341/DM12802.
2. Willett W., Rockström J., Loken B. et al. Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. Lancet. 2019 Feb 2;393(10170):447-492. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31788-4.
3. Ley S.H., Ardisson Korat A.V., Sun Q. et al. Contribution of the Nurses' Health Studies to Uncovering Risk Factors for Type 2 Diabetes: Diet, Lifestyle, Biomarkers, and Genetics. Am J. Public Health. 2016 Sep; 106(9):1624-30. doi: 10.2105/AJPH.2016.303314.
4. Rana A., Samtiya M., Dhewa T. et al. Health benefits of polyphenols: A concise review.J Food Biochem. 2022 Oct; 46(10):e14264. doi: 10.1111/jfbc.14264.
5. Zhang Z., Huang Q., Zhao D. et al. The impact of oxidative stress.induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. Front Endocrinol (Lausanne). 2023 Feb 7; 14:1112363. doi: 10.3389/fendo.2023.1112363.
6. Love K.M., Barrett E.J., Malin S.K. et al. Diabetes pathogenesis and management: the endothelium comes of age. J Mol Cell Biol. 2021 Oct 21; 13(7):500-512. doi: 10.1093/jmcb/mjab024.
7. Tian R., Tian M., Wang L., Qian H., Zhang S., Pang H., Liu Z., Fang L., Shen Z. C-reactive protein for predicting cardiovascular and all-cause mortality in type 2 diabetic patients: A meta-analysis. Cytokine. 2019 May; 117:59-64. doi: 10.1016/j.cyto.2019.02.005.
8. Gantenbein K.V., Kanaka-Gantenbein C. Mediterranean Diet as an Antioxidant: The Impact on Metabolic Health and Overall Wellbeing. Nutrients. 2021 Jun 6; 13(6):1951. doi: 10.3390/nu13061951.
9. Majdan M, Bobrowska-Korczak B. Active Compounds in Fruits and Inflammation in the Body.Nutrients. 2022 Jun 16;14(12):2496. doi: 10.3390/nu14122496.
10. Залетова Т.С., Дербенева С.А. Оценка распространенности сопутствующих заболеваний у больных морбидным ожирением в зависимости от веса, индекса массы тела, пола и возраста. Вопросы диетологии 2022; 12(3): 5–10. doi: 10.20953/2224-5448-2022-3-5-10.

ВЛИЯНИЕ ОБЪЁМА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ПЛОТНОСТИ ИНОКУЛЯТА НА РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЗНАЧЕНИЙ МИНИМАЛЬНОЙ ПОДАВЛЯЮЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *ENTEROBACTERIACEAE*

К.Н. Алиева, Д.А. Кондратьева, Е.Н. Струкова, М.В. Голикова

ФГБНУ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе

Аннотация

Обоснование: Оценка значений минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотиков в клинически релевантных условиях, то есть с инокулятом высокой плотности и в увеличенном объёме питательной среды, позволила бы учесть влияние этих факторов на активность антибиотика. Такой подход может позволить выявить штаммы с рисками развития устойчивости к антибиотикам в процессе лечения и грамотно подобрать препараты для антибактериальной терапии.

Цель исследования: Проведение сравнительной оценки значений МПК антибиотиков в стандартных и клинически релевантных условиях; верификация результатов в экспериментах в динамической системе *in vitro*.

Методы: МПК меропенема в отношении *Escherichia coli* и азтреонама в отношении *Klebsiella pneumoniae* оценивали в стандартных условиях (МПК), а также при увеличенном объёме 220 мл ($МПК_{ВО}$) или увеличенной концентрации бактерии 5×10^7 КОЕ/мл ($МПК_{ВИ}$). При оценке МПК в увеличенном объёме отбирали пробы с 0, 2, 8 и 24 ч для оценки численности клеток методом флуоресцентной микроскопии. С репрезентативным штаммом, характеристика чувствительности которого в разных условиях существенно различалась, провели эксперименты в динамической системе *in vitro* при клиническом режиме дозирования антибиотика.

Результаты: Значения МПК меропенема в отношении *Escherichia coli* и азтреонама в отношении *Klebsiella pneumoniae* возрастали в 2 и более раза при увеличенном объёме 220 мл и в 16 и более раз при увеличенной концентрации бактерии 5×10^7 КОЕ/мл по сравнению с соответствующими значениями в стандартных условиях. Флуоресцентная микроскопия точно показывала численность бактерий до и после воздействия антибиотика, а во время воздействия наблюдали клетки изменённой морфологии, которые могли быть нежизнеспособны. Результаты экспериментов в динамической системе *in vitro* согласовывались с оценкой МПК в релевантных условиях.

Заключение: Использование $МПК_{ВО}$ и $МПК_{ВИ}$ для оценки эффективности антибиотиков и риска развития к ним устойчивости бактерий в соответствующих условиях (объёме очага инфекции и бактериальной нагрузки) могло бы способствовать грамотному подбору антибиотиков и предотвращению селекции устойчивых мутантов. Флуоресцентная микроскопия позволяет оценивать численность жизнеспособных бактерий в реальном времени.

Ключевые слова: МПК в релевантных условиях, эффективность антибиотикотерапии, резистентность бактерий к антибиотикам

THE INFLUENCE OF VOLUME AND INOCULUM ON THE MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS AGAINST *ENTEROBACTERIACEAE* AND THE POSSIBILITY OF USING FLUORESCENCE MICROSCOPY FOR RAPID ASSESSMENT OF BACTERIAL COUNTS

K.N. Alieva, D.A. Kondratieva, E.N. Strukova, M.V. Golikova

Gause Institute of New Antibiotics

Abstract

Background: Assessing minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics under clinically relevant conditions, i.e. with an increased inoculum density and in an increased volume of the nutrient medium, would allow to consider the influence of these factors on the activity of the antibiotic. This approach may make it possible to identify strains with risks of developing antibiotic resistance during treatment and to correctly select drugs for antibacterial therapy.

Aims: Carrying out a comparative assessment of the MIC values of antibiotics under standard and clinically relevant conditions; verification of results in experiments in a dynamic *in vitro* system.

Materials and methods: The MIC of meropenem against *Escherichia coli* and aztreonam against *Klebsiella pneumoniae* was assessed under standard conditions (MIC), as well as at an increased volume of 220 ml (MIC_{HV}) or an increased bacterial concentration of 5×10^7 CFU/ml (MIC_{HI}). When assessing the MIC at an increased volume, samples were taken from 0, 2, 8 and 24 hours to assess the number of cells using fluorescence microscopy. Experiments were carried out with a representative strain, the susceptibility characteristics of which differed significantly under different conditions, in a dynamic *in vitro* system with simulated clinical antibiotic dosing regimen.

Results: The MICs of meropenem against *Escherichia coli* and the MICs of aztreonam against *Klebsiella pneumoniae* increased 2 or more times with an increased volume of 220 ml and 16 or more times with an increased bacterial concentration of 5×10^7 CFU/ml compared to the corresponding values under standard conditions. Fluorescence microscopy accurately showed the number of bacteria before and after antibiotic exposure, and during exposure, cells with altered morphology were observed, which could be non-viable. The results of experiments in a dynamic system *in vitro* were consistent with the MICs under relevant conditions.

Conclusions: The use of MIC_{HV} and MIC_{HI} to assess the effectiveness of antibiotics and the risk of developing bacterial resistance to them under appropriate conditions (volume of the infection site and bacterial load) could contribute to competent selection of antibiotics and prevention of resistance selection. Fluorescence microscopy makes it possible to assess the number of viable bacteria in real time.

Keywords: MIC in relevant conditions, effectiveness of antibiotic therapy, bacterial resistance to antibiotics

Обоснование

Метод микроразведений в бульоне – это референтный метод оценки значений минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотиков в отношении патогенных микроорганизмов [1]. В микрообъемах питательной среды (0,1-0,2 мл) культивируют клетки бактерии, концентрация которых задается на уровне 5×10^5 КОЕ/мл. В то же время, объём жидкости и бактериальная нагрузка в очаге инфекции у человека могут быть на порядки выше [2-5], что приводит к скоплению большого количества клеток возбудителя. Если в питательной среде объёмом 0,2 мл и концентрацией клеток 5×10^5 КОЕ/мл суммарно присутствует ~10^5 КОЕ, то в очаге инфекции объёмом 100 мл с той же концентрацией бактерий – ~5×10^7 КОЕ. Среди такого количества бактерий весьма вероятно присутствие мутантных клеток, которые не поддадутся терапии и вызовут рецидив заболевания. То же касается и случаев с тяжелым течением заболевания, когда титры клеток в очаге достигают высоких значений (>10^7 КОЕ/мл). Оценка значений МПК антибиотиков в клинически релевантных условиях, то есть с инокулятом высокой плотности и в увеличенном объёме питательной среды, позволила бы учесть влияние этих факторов на активность антибиотика. Такой подход может позволить выявить штаммы, которые чувствительны к антибиотику в стандартных условиях, но становятся резистентными к нему в клинически релевантных условиях из-за увеличения МПК. Такие штаммы могут представлять большую угрозу жизни и здоровью пациента, поскольку могут ассоциироваться с повышенными рисками развития устойчивости к антибиотикам в процессе лечения. Их своевременное выявление может позволить грамотно подобрать препараты для антибактериальной терапии.

Объектами исследования стали бета-лактамные антибиотики и клинически значимые грамотрицательные бактерии. Для оценки эффективности антибиотикотерапии в отношении репрезентативного чувствительного штамма, который согласно значениям МПК в клинически релевантных условиях характеризуется как устойчивый к антибиотику, были проведены фармакодинамические эксперименты. Для этого использовалась динамическая система *in vitro*, в которой можно воспроизводить фармакокинетический профиль антибиотика в очаге инфекции, наблюдаемый при применении препарата в клинической дозе [6].

Цель исследования: проведение сравнительной оценки значений МПК меропенема в отношении *Escherichia coli* и азтреонама в отношении *Klebsiella pneumoniae* в стандартных условиях, а также при увеличенном объёме 220 мл и/или увеличенной концентрации бактерии 5×10^7 КОЕ/мл; верификация отнесения штамма к категории чувствительных или резистентных к антибиотику согласно МПК в клинически релевантных условиях по результатам фармакодинамических экспериментов в динамической системе *in vitro* при моделировании клинического курса терапии.

Методы

МПК меропенема оценивали в отношении трёх штаммов-трансконъюгантов *E. coli*, получивших плазмиды резистентности от клинических изолятов *K. pneumoniae*: *E. coli* C600-565-TK (KPC), *E. coli* C600-485-TK (OXA-48), *E. coli* C600-105623-TK (NDM, OXA-48). МПК азтреонама оценивали в отношении трёх не связанных с предыдущими изолятов *K. pneumoniae*: *K. pneumoniae* 2867 (NDM), *K. pneumoniae* 2982 (NDM), *K. pneumoniae* 247 (NDM). Продуцируемые карбапенемазы указаны в скобках. Условия тестирования были следующими: 0,2 мл и 5×10^5 КОЕ/мл (МПК), 220 мл и 5×10^5 КОЕ/мл (МПК при увеличенном объёме, $МПК_{ВО}$), 0,2 мл и 5×10^7 КОЕ/мл (МПК при увеличенном инокуляте, $МПК_{ВИ}$).

Определение $МПК_{ВО}$ сопровождалось отбором проб до начала воздействия антибиотика, и на 2, 8 и 24 ч экспозиции и их высевом на агар и микроскопией с акридиновым оранжевым 0,01% для окрашивания жизнеспособных клеток или пропидия йодидом 0,1% для окрашивания нежизнеспособных клеток. Методика подготовки проб, окрашивания и проведения микроскопии подробно описана [7]. Метод флуоресцентного окрашивания и микроскопии применялся как альтернативный метод оценки численности жизнеспособных клеток бактерии в биопробах, а также для изучения морфологии клеток, находящихся под действием антибиотика.

С репрезентативным штаммом *E. coli*, характеристика чувствительности которого по $МПК_{ВО}$ и $МПК_{ВИ}$ меропенема существенно различалась, провели эксперименты в динамической системе *in vitro* диализного типа [6] объёмом 220 мл со стартовым инокулятом 10^6 и 10^8 КОЕ/мл. В такой системе, которая позволяет воспроизводить фармакокинетику антибиотика у человека в очаге инфекции и изучать его фармакодинамику, моделировали трёхдневное лечение меропенемом при клиническом режиме дозирования 2 грамма каждые 8 часов в виде 3-часовой инфузии [8]. Порядок действий при проведении экспериментов в системе подробно описан [9].

Результаты

Зависимое от инокулята увеличение МПК наблюдали во всех случаях: с меропенемом и *E. coli* значения $МПК_{ВИ}$ были в 16-64-раза выше соответствующих значений МПК, с азтреонамом и *K. pneumoniae* – в 256 и более раз (Таблица 1). Два штамма *E. coli* и три штамма *K. pneumoniae* стали устойчивыми к данным антибиотикам согласно $МПК_{ВИ}$. Зависимое от объёма увеличение МПК наблюдали у 5 из 6 объектов, причём только в случае *E. coli* C600-105623-TK разница между $МПК_{ВО}$ и МПК была более, чем двухкратной, и этот штамм стал устойчивым к меропенему согласно $МПК_{ВО}$.

Флуоресцентная микроскопия с акридиновым оранжевым позволяла оценить порядок численности жизнеспособных бактерий в реальном времени в отсутствие или до начала воздействия антибиотика, а также по окончании вторичного роста клеток (Рисунок 1). Микроскопия тех же проб с пропидия йодидом показывала численно похожие результаты. Менее

подверженными окрашиванию пропидия йодидом были клетки изолятов *K. pneumoniae* 2867 и 247. Спустя 2 ч от начала экспозиции численность клеток по результатам микроскопии с обоими красителями преимущественно была выше их численности согласно культуральному методу. Спустя 8 и 24 ч при отсутствии вторичного роста при микроскопии не выявляли бактерий, окрашенных акридиновым оранжевым, но могли наблюдать клетки, окрашенные пропидия йодидом.

При микроскопии о жизнеспособности окрашенных клеток можно было судить по их морфологии. В присутствии антибиотика на 2 и 8 ч наблюдения можно было наблюдать бактерии с изменённой морфологией: увеличенные шарообразные формы в случае *E. coli* и меропенема и длинные цепочки в случае *K. pneumoniae* и азтреонама (Рисунок 2). Судя по расхождению между численностью жизнеспособных бактерий согласно микроскопии и культуральному методу, морфологически нестандартные варианты могут быть нежизнеспособны.

Для верификации значений МПК меропенема, определяемых в разных условиях, был выбран чувствительный к меропенему в стандартных условиях штамм *E. coli* C600-565-TK. Как было показано в Таблице 1, для этого штамма значения МПК меропенема в разных условиях заметно отличались, что влияло на то, к какой категории чувствительности к меропенему он был отнесён: $МПК_{ВО}$ – чувствительный к меропенему, $МПК_{ВИ}$ – устойчивый к меропенему. Были проведены эксперименты в динамической системе *in vitro* со стартовым инокулятом 10^6 КОЕ/мл (условия, близкие к таковым при оценке значения $МПК_{ВО}$) и 10^8 КОЕ/мл (условия, близкие к таковым при оценке значения $МПК_{ВИ}$). Результаты экспериментов согласовывались с результатами оценки МПК в клинически релевантных условиях: при умеренном стартовом инокуляте наблюдали гибель бактерий в течение первых суток моделируемой терапии, что свидетельствует о чувствительности штамма к меропенему ($МПК_{ВО}$ = 2 мкг/мл), а при высоком стартовом инокуляте – интенсивный вторичный рост и селекцию устойчивых к антибиотику клеток, что свидетельствует о резистентности штамма к меропенему ($МПК_{ВИ}$ = 64 мкг/мл).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Влияние инокулята и объёма на МПК наблюдается в случае как меропенема и *E. coli*, так и азтреонама и *K. pneumoniae*. Результаты экспериментов в динамической системе *in vitro* подтверждают достоверность оценки МПК в релевантных условиях.

Обсуждение основного результата исследования

Мы обнаружили, что МПК меропенема в отношении *E. coli* и азтреонама в отношении *K. pneumoniae* может возрастать при увеличении объёма питательной среды или инокулята, причём повышение концентрации бактерий сильнее снижает активность антибиотика. Зависимое от объёма повышение МПК ранее отмечалось в некоторых исследованиях, где проверяли

воспроизводимость значений МПК при использовании различных стандартных методов [10-12]. Значения МПК, полученные при помощи макроразведений, как правило, были на 1-2 двукратное разведение выше по сравнению с соответствующими результатами микроразведений. Такое увеличение МПК нечасто приводило к изменению характеристики штамма с чувствительного на устойчивый к антибиотику. Похожую ситуацию мы наблюдали в настоящей работе: лишь в одном из 6 случаев значение $МПК_{ВО}$ было более чем вдвое больше МПК и характеризовало штамм как устойчивый. Тем не менее, увеличение объёма среды при умеренном инокуляте стоит рассматривать как фактор риска развития устойчивости к антибиотикам, поскольку редкость явления не означает его отсутствие. Зависимое от инокулята увеличение МПК – это известное явление, которое принято называть инокулюм-эффект (inoculum effect), если МПК возрастает в 8 и более раз. Данное явление отмечали с различными антибиотиками и бактериями, обычно с бета-лактамами и продуцентами бета-лактамаз, и формируется консенсус, что оно может быть клинически значимым [13-15].

Согласно нашим наблюдениям, изменённая морфология клеток под воздействием антибиотика указывает на их возможную нежизнеспособность, что согласуется с результатами других работ [16-18]. Принимая во внимание ограничения метода [7], мы полагаем, что флуоресцентную микроскопию можно использовать для оценки численности жизнеспособных бактерий, то есть клеток типичной морфологии, при их ожидаемой концентрации выше 10^6 КОЕ/мл.

Результаты экспериментов в динамической системе *in vitro* показали, что параметры $МПК_{ВО}$ и $МПК_{ВИ}$ адекватно отражают потенциальную эффективность антибиотика, так как определены в условиях, схожих с условиями в биореакторе (очаге инфекции) динамической системы. Данные параметры могут быть перспективными для использования при прогнозировании эффективности антибиотиков и оценке риска развития устойчивости бактерий в процессе лечения. Успешное прогнозирование эффективности антибиотиков могло бы способствовать оптимизации терапии антибиотиками и препятствовать развитию и распространению устойчивости к ним.

Ограничения исследования

Представленная работа была проведена с малым количеством объектов. Для подтверждения сделанных нами выводов стоит провести аналогичные исследования с большим разнообразием антибиотиков и бактерий.

Заключение

Значения МПК меропенема в отношении *E. coli* и азтреонама в отношении *K. pneumoniae* могут возрастать в 2 раза и более при увеличенном объёме питательной среды 220 мл и в 16 раз и более при увеличенной концентрации клеток бактерии 5×10^7 КОЕ/мл по сравнению с соответствующими значениями в стандартных условиях. Использование $МПК_{ВО}$ и $МПК_{ВИ}$ для оценки эффективности антибиотиков и риска развития к ним устойчивости бактерий в соответствующих условиях (объёме очага инфекции и бактериальной нагрузки) могло бы способствовать грамотному подбору антибиотиков и предотвращению селекции устойчивых мутантов. Флуоресцентная микроскопия позволяет оценивать численность жизнеспособных бактерий в реальном времени.

Источник финансирования

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (№ 22-75-00066).

Участие авторов

К.Н. Алиева – общее руководство работой, планирование исследования, анализ и интерпретация результатов на всех этапах исследования; проведение флуоресцентной микроскопии; написание, проверка и редактирование текста публикации.

Д.А. Кондратьева – ведение бактериальных культур, оценка чувствительности бактерий к антибиотикам в стандартных и клинически релевантных условиях; проверка текста публикации.

Е.Н. Струкова – проведение исследований в динамической системе *in vitro* и оценка динамики численности общей популяции клеток и устойчивых к антибиотику субпопуляций культуральными методами; проверка текста публикации.

М.В. Голикова – планирование исследования; написание, проверка и редактирование текста публикации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальный стандарт российской федерации ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод микроразведений в бульоне для лабораторного исследования активности антимикробных агентов по отношению к быстрорастущим аэробным бактериям, вызывающим инфекционные заболевания.
2. Strassen U., Grimler C., Hofauer B. Ultrasound-guided needle aspiration vs. surgical incision of parotid abscesses. *J. Clin. Med*. 2022; 11: 7425. https://doi.org/10.3390/jcm11247425
3. Yildirim G., Karakas H. Percutaneous catheter drainage in retroperitoneal abscesses: a single centre's 8-year experience. *Pol. J. Radiol*. 2022; 87: e238-e245. https://doi.org/10.5114/pjr.2022.115815

4. Zaccard C. R., Schell R. F., Spiegel C. A. Efficacy of bilateral bronchoalveolar lavage for diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *J. Clin Microbiol*. 2009; 47(9): 2918–2924. https://doi.org/10.1128/JCM.00747-09
5. Wang H., Gu X., Weng Y., Xu T., Fu Z., Peng W., Yu W. Quantitative analysis of pathogens in the lower respiratory tract of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Pulm. Med*. 2015; 15: 94. https://doi.org/10.1186/s12890-015-0094-z
6. Blaser J., Stone B. B., Zinner S. H. Two compartment kinetic model with multiple artificial capillary units. *J. Antimicrob. Chemother*. 1985; 15 (Suppl. A): 131–137. https://doi.org/10.1093/jac/15.suppl_A.131
7. Alieva K. N., Golikova M. V., Kuznetsova A. A., Zinner S. H. Fluorescence microscopy: determination of meropenem activity against *Klebsiella pneumoniae*. *Antibiotics*. 2023; 12: 1170. https://doi.org/10.3390/antibiotics12071170
8. Wenzler E., Gotfried M. H., Loutit J. S., Durso S., Griffith D. C., Dudley M. N., Rodvold K. A. Meropenem-RPX7009 concentrations in plasma, epithelial lining fluid, and alveolar macrophages of healthy adult subjects. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 2015; 59 (12): 7232–7239. https://doi.org/10.1128/AAC.01713-15
9. Firsov A. A., Alieva K. N., Strukova E. N., Golikova M. V., Portnoy Y. A., Dovzhenko S. A., Kobrin M. B., Romanov A. V., Edelstein M. V., Zinner S. H. Testing the mutant selection window hypothesis with *Staphylococcus aureus* exposed to linezolid in an *in vitro* dynamic model. *J. Antimicrob. Chemother*. 2017; 72: 3100–3107. https://doi.org/ 10.1093/jac/dkx249
10. Doern G. V., Tubert T. A. *In vitro* activities of 39 antimicrobial agents for *Branhamella catarrhalis* and comparison of results with different quantitative susceptibility test methods. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 1988; 32 (2): 259–261. https://doi.org/10.1128/aac.32.2.259
11. Sahm D. F., Kissinger J., Gilmore M. S., Murray P. R., Mulder R., Solliday J., Clarke B. *In vitro* susceptibility studies of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 1989; 33 (9): 1588–1591. https://doi.org/10.1128/aac.33.9.1588
12. Vaudaux P., Huggler E., Bernard L., Ferry T., Renzoni A., Lew D. P. Underestimation of vancomycin and teicoplanin MICs by broth microdilution leads to underdetection of glycopeptide-intermediate isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 2010; 54 (9): 3861–3870. https://doi.org/10.1128/AAC.00269-10
13. Smith K. P., Kirby J. E. The inoculum effect in the era of multidrug resistance: minor differences in inoculum have dramatic effect on MIC determination. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 2018; 62 (8): e00433-18. https://doi.org/10.1128/AAC.00433-18.
14. Kim T., Lee S. C., Bae M., Sung H., Kim M.-N., Jung J., Kim M. J., Kim S.-H., Lee S.-O., Choi S.-H., Kim Y. S., Chong Y. P. *In vitro* activities and inoculum effects of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against carbapenem-resistant *Enterobacterales* isolates from South Korea. *Antibiotics*. 2020; 9: 912. https://doi.org/10.3390/antibiotics9120912
15. Lenhard J. R., Bulman Z. P. Inoculum effect of β-lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother*. 2019; 74: 2825–2843. https://doi.org/10.1093/jac/dkz226
16. Gauthier C., St-Pierre Y., Villemur R. Rapid antimicrobial susceptibility testing of urinary tract isolates and samples by flow cytometry. *J. Med. Microbiol*. 2002; 51: 192–200. https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-3-192
17. Saint-Ruf C., Crussard S., Franceschi C., Orenga S., Ouattara J., Ramjeet M., Surre J., Matic I. Antibiotic susceptibility testing of the Gram-negative bacteria based on flow cytometry. *Front. Microbiol*. 2016; 7: 1121. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01121
18. Mulroney K. T., Hall J. M., Huang X., Turnbull E., Bzdyl N. M., Chakera A., Naseer U., Corea E. M., Ellington M. J., Hopkins K. L., Wester A. L., Ekelund O., Woodford N., Inglis T. J. J. Rapid susceptibility profiling of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Sci. Rep*. 2017; 7: 1903. https://doi.org/10.1038/s41598-017-02009-3

Таблицы

Таблица 1. Значения МПК бета-лактамных антибиотиков в отношении *Enterobacteriaceae* в различных условиях. Зелёный цвет – чувствительный, оранжевый – промежуточно чувствительный, красный – устойчивый к антибиотику штамм согласно ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 [1].

Штамм (тип бета-лактамаз)	МПК 5×10^5 КОЕ/мл, 0,2 мл	МПКви 5×10^7 КОЕ/мл, 0,2 мл	МПКво 5×10^5 КОЕ/мл, 220 мл
Меропенем – *Escherichia coli*			
E. coli C600-565-TK (KPC)	1	64	2
E. coli C600-485-TK (OXA-48)	0,5	8	1
E. coli C600-105623-TK (NDM, OXA-48)	2	64	≥16
Азтреонам – *Klebsiella pneumoniae*			
K. pneumoniae 2867 (NDM)	0,5	≥512	0,5
K. pneumoniae 2982 (NDM)	0,5	≥512	1
K. pneumoniae 247 (NDM)	1	256	1

Рисунки

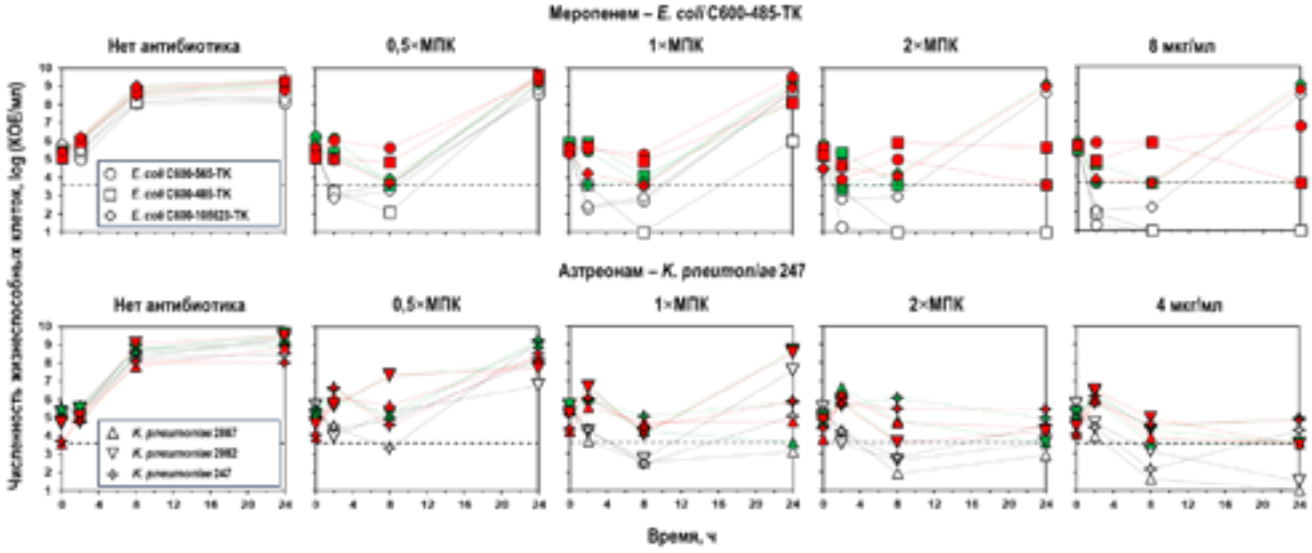


Рисунок 1. Изменение численности бактерий в отсутствие антибиотика и под воздействием меропенема в концентрации 0,5×, 1×, 2×МПК и пороговой концентрации (8 мкг/мл для меропенема и 4 мкг/мл для авибактама). Чёрные символы – высевы на агар, зелёные символы – микроскопия с акридиновым оранжевым, красные символы – микроскопия с пропидия йодидом. Пунктирная линия – предел определения метода микроскопии.

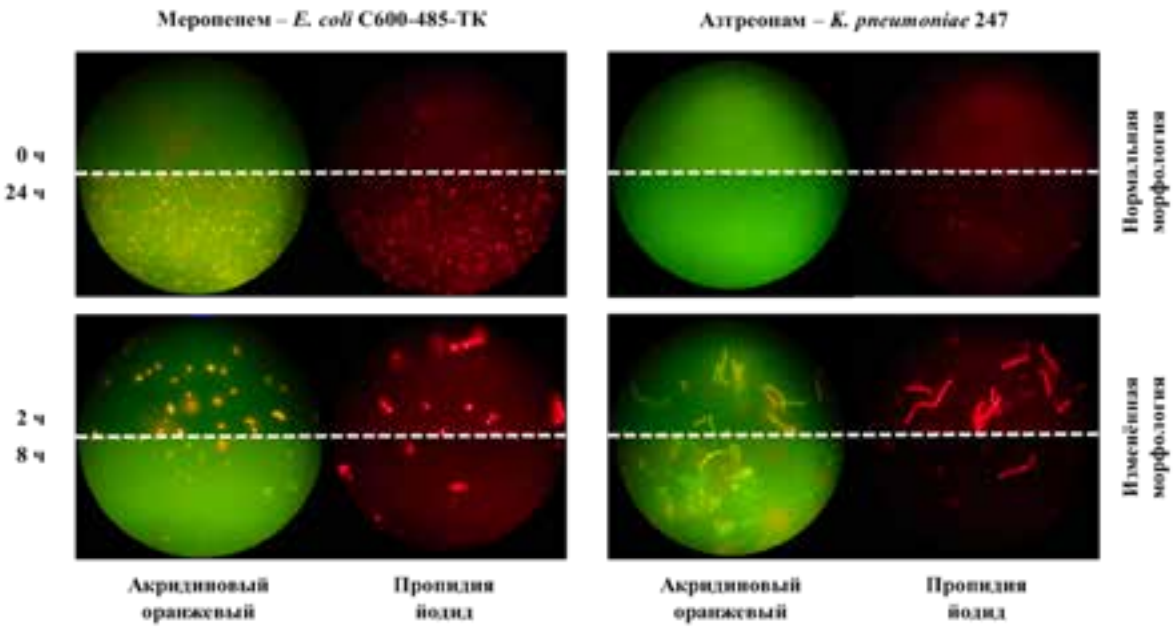


Рисунок 2. Поля зрения бактерий под воздействием антибиотика в концентрации 0,5×МПК.

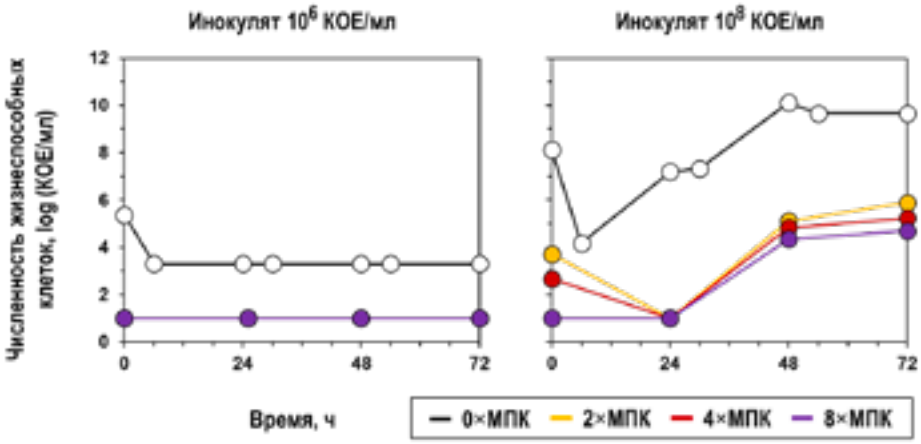


Рисунок 3. Изменение численности клеток общей популяции *E. coli* C600-565-ТК и субпопуляций, устойчивых к 2×, 4× и 8×МПК меропенема под воздействием антибиотика в динамической системе *in vitro*.

Контактная информация

Алиева Камилла Натиговна, к.б.н. [Kamilla N. Alieva, PhD]; адрес: Россия, 119021, Москва, улица Большая Пироговская, дом 11 строение 1 [address: 11 Bolshaya Pirogovskaya Street, 119021 Moscow, Russia]; телефон: +7 916 510-20-27 ORCID: 0000-0002-2107-8259; eLibrary SPIN: 2071-1734; e-mail: qvimqwem@yandex.ru.

Кондратьева Дарья Андреевна, [Daria A. Kondratieva]; e-mail: goawaymrway@gmail.com; ORCID: 0009-0008-9953-135X.

Струкова Елена Николаевна, к.б.н. [Elena N. Strukova, PhD]; e-mail: kindyn@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-5391-1137; eLibrary SPIN: 9693-7240.

Голикова Мария Владимировна, к.б.н. [Maria V. Golikova, PhD]; e-mail: smirnovka2007@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-7588-1733; eLibrary SPIN: 9078-4922.

ФАРМАКОГЕНЕТИКА МЕТОТРЕКСАТА: ПЕРСПЕКТИВЫ ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

А.В. Асоскова, ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

Научные руководители: А.А. Кубанов, академик РАН, д.м.н., кафедра дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,

Д.А. Сычев, академик РАН, д.м.н., кафедра клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

Актуальность

Псориаз является распространенным хроническим рецидивирующим заболеванием, и целью терапии псориаза является получение контроля над течением заболевания и сведение к минимуму нежелательных лекарственных реакций за счет применения препаратов, которые обеспечивают поддержание длительной ремиссии и хорошо переносятся пациентами. Метотрексат применяется в лечении псориаза с 1972 года. Его высокая эффективность и возможность долговременной терапии позволяют считать метотрексат одним из лекарственных средств выбора при лечении среднетяжелых тяжелых форм псориаза, однако у многих пациентов отмечаются серьезные нежелательные лекарственные реакции, которые становятся причиной отмены препарата и прерывания лечения у трети пациентов [1, 2]. Вариабельность ответа пациентов на терапию метотрексатом, необходимость длительного лечения и отсутствие алгоритма прогнозирования нежелательных лекарственных реакций определяют необходимость поиска биомаркеров, которые могли бы быть предикторами индивидуального ответа на терапию. Согласно данным современных фармакогенетических исследований, среди факторов, влияющих на безопасность метотрексата, большая роль отводится однонуклеотидным полиморфизмам в генах, определяющих индивидуальные особенности фармакокинетики препарата. На фармакокинетику метотрексата оказывают влияние полиморфизмы генов, кодирующих транспортеры метотрексата, участвующие в процессах всасывания, распределения и выведения препарата. Активность белков-транспортеров оказывает влияние на концентрации препарата в плазме крови и периферических тканях, тем самым определяя его токсичность [2, 3]. Выявление полиморфизмов генов, кодирующих белки-переносчики метотрексата, позволяет прогнозировать риск метотрексат-индуцированной токсичности. Выявление подобных ассоциаций позволяет установить связь безопасности метотрексата с его фармакогенетическими особенностями и разработать клинико-лабораторный подход к персонализированному выбору

фармакотерапии псориаза, позволяющий прогнозировать возникновение и тяжесть токсических явлений при лечении метотрексатом.

Цель исследования

Разработка алгоритма, позволяющего прогнозировать безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза метотрексатом с использованием фармакогенетического тестирования.

Задачи исследования

Для выявления ассоциации полиморфизмов генов, кодирующих белки-переносчики метотрексата*: ABCB1 (rs1045642, rs4148738) и SLCO1B1(rs4149056)* с безопасностью терапии препаратом метотрексат у пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, проведена оценка частоты и тяжести нежелательных реакций и проанализирована взаимосвязь между частотой и тяжестью нежелательных реакций метотрексата и генотипами пациентов.

Материалы и методы

В исследование были включены 75 пациентов с диагнозом с диагнозом псориаз. После оценки кожного патологического процесса, сбора анамнеза и определения степени тяжести псориаза, определялось наличие показаний к системной терапии метотрексатом, и проводилось лечение метотрексатом в рекомендованных клинических дозировках. При соответствии пациента критериям включения, на клиническом этапе исследования осуществлялось клинико-лабораторное обследование и лечение пациентов с псориазом среднетяжелой и тяжелой степени тяжести метотрексатом. Проведено выявление и оценка частоты нежелательных лекарственных реакций, которые могли быть ассоциированы с терапией метотрексатом, оценена тяжесть нежелательных лекарственных реакций метотрексата. На фармакогенетическом этапе исследования проведено генотипирование пациентов и определение носительства аллельных вариантов изучаемых генов. На аналитическом этапе исследования проведена оценка ассоциация наличия генетических полиморфизмов на безопасность терапии, а также влияния других – негенетических факторов на безопасность терапии.

Нежелательные лекарственные реакции оценивались со стороны органов кроветворения, со стороны центральной нервной системы, со стороны органов чувств, со стороны дыхательной системы, со стороны пищеварительной системы, со стороны мочевыделительной системы, со стороны кожных покровов, со стороны костно-мышечной системы, со стороны сердечно-сосудистой системы, со стороны иммунной системы, со стороны репродуктивной системы.

Данные о нежелательных лекарственных реакциях собирали с помощью специально разработанного клинически структурированного опросника адресного анкетирования по методике В.М. Цветова. Данные о симптоматических нежелательных лекарственных реакциях выявлялись в ходе опроса пациента: пациенту задавали вопросы относительно наличия каждой из ожидаемых симптоматических нежелательных лекарственных реакций по всем органам и системам ежедневно с момента включения пациента в исследование.

В случае положительного ответа, выраженность НЛР оценивалась пациентом самостоятельно при помощи визуально-аналоговой нумерологической оценочной шкалы. Кроме того, выраженность НЛР оценивалась при помощи шкалы выраженности токсичности CTCAE_v5.0. Тяжесть нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта оценивали при помощи специализированного опросника для оценки качества жизни пациентов с учетом симптомов со стороны ЖКТ – GSRS.

Для оценки причинно-следственной связи приема метотрексата и НЛР использовались шкала Наранжо. В исследовании были рассмотрены только те НЛР, которые имели определенную, вероятную, возможную степень связи.

Нежелательные лекарственные реакции также выявлялись при помощи анализа данных лабораторных исследований: общего и биохимического анализа крови, а также общего анализа мочи. Оценивались значения результатов лабораторных исследований при госпитализации до приема пациентом метотрексата и на фоне терапии метотрексатом. Кроме того, оценивалась динамика лабораторных показателей. Тяжесть НЛР также оценивалась при помощи шкалы выраженности токсичности CTCAE_v5.0.

Определение носительства полиморфизмов *rs1045642* гена *ABCB1*, *rs4148738* гена *ABCB1*, *rs4149056* гена *SLCO1B1* было осуществлено при помощи генотипирования методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с аллель-специфической гибридизацией. Применялись современные статистические методы анализа данных.

Результаты

Нежелательные реакции возникли у 57 пациентов (76%): отмечалась токсичность со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, нефро- и гепатотоксичность.

38 (50,67%) пациентов испытывали нежелательные лекарственные реакции метотрексата со стороны желудочно-кишечного тракта: диспепсию (44%), тошноте (38,67%), диарею (22,67%), боль в животе (16%), стоматит (4%), изжогу (2,67%), боль в правом подреберье (5,33%), рвоту (2,67%). Минимальный балл оценки по шкале GSRS составил 3, максимальный – 25, что говорило о выраженном влиянии нежелательных

реакций на качество жизни пациентов. По шкале CTCAE тяжесть соответствовала легкой и умеренной.

У 39 (52%) пациентов выявлены нежелательные реакции со стороны центральной нервной системы: повышенная утомляемость (32%), головная боль (5,33%), бессонница (13,33%), головокружение (1,33%). Тяжесть токсического действия метотрексата со стороны центральной нервной системы была оценена как легкая и умеренная.

У 25 (33,33%) пациентов выявлена нефротоксичность: протеинурия (5,33%) и повышение уровня креатинина (29,33%).

У 21 (29,3%) пациентов была выявлена гепатоксичность: повышение уровня АЛТ в сыворотке крови (28%), повышение уровня АСТ в сыворотке крови (14,67%), повышение уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови (4%). Выраженность нефротоксичности метотрексата не превышала 1 степень тяжести по шкале CTCAE, в отличие от гепатотоксичности, степень тяжести которой у некоторых пациентов была средней и высокой (2 и 3 степень тяжести по шкале CTCAE), что привело к необходимости отмены метотрексата.

При этом, отсутствовала статистически значимая разница между частотой возникновения этих нежелательных реакций метотрексата и клинико-демографическими характеристиками пациентов, степенью тяжести псориаза, количеством инъекций и дозой метотрексата. Кроме того, мы проанализировали структуру сопут. Патологии и исключили ее влияние на частоту и выраженностью НЛР, что подчеркивает значимость вклада генетических факторов.

Установлено, частота и степень выраженности нежелательных реакций у пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, получающих терапию метотрексатом, ассоциированы с носительством полиморфизмов генов ABCB1 (rs1045642) и SLCO1B1 (rs4149056).

Доказано, что нежелательные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта статистически значимо чаще выявляются у носителей генотипов *CT* и *TT ABCB1 rs1045642* ($p = 0,006$). Установлено, что у носителей генотипов *CT* и *TT ABCB1 rs1045642* при лечении метотрексатом статистически значимо чаще возникает диспепсия ($p = 0,008$) и боль в животе ($p= 0,016$). Доказано наличие статистически значимого влияния замены аллеля С на аллель Т полиморфизма *ABCB1 rs1045642* на развитие нежелательных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта: OR = 8,64, 95% CI OR: 1,78 – 42,01, $p = 0,008$ (чувствительность составляет 94,7%, специфичность – 67,56), а именно тошноты: OR = 4,76, 95% CI: 0,98 – 23,13, $p = 0,05$, диспепсии: OR = 14,34, 95% CI: 1,76 – 116,57, $p = 0,013$; боли в животе: OR = 9,03, 95% CI: 1,109 – 73,5, $p = 0,04$.

Установлено, что нежелательные лекарственные реакций метотрексата со стороны центральной нервной системы возникают статистически значимо чаще у пациентов с псориазом-носителей генотипа TT ABCB1 rs1045642 (чувствительность – 57,14%, специфичность – 23,4 %, OR = 4,36, 95% CI: 1,59 – 11,95, p = 0,004). Доказано, что слабость и повышенная утомляемость у пациентов с псориазом, получающих метотрексат, имеет статистически значимо большую выраженность при носительстве аллеля *T* (генотипы *TC+TT*) *ABCB1 rs1045642* (p=0,045).

Продемонстрировано отсутствие влияния полиморфизма *ABCB1 (rs4148738)* на частоту возникновения нежелательных реакций метотрексата у пациентов с псориазом.

Установлено, что гепатотоксичность статистически значимо чаще выявляется у носителей генотипа TT по полиморфизму *SLCO1B1 rs4149056* (p=0,028). Доказано, что носительство генотипа *TT (rs4149056)* гена *SLCO1B1* статистически значимо влияет на клинически значимое повышение уровня АЛТ (OR = 4,452, 95% CI: 1.084 – 1,804, p=0,028). Чувствительность теста составляет 85,71%, специфичность – 57,41%.

Выводы

Выявлены предикторы развития токсического действия метотрексата: носительство аллеля *T ABCB1 rs1045642* и носительство «дикого» генотипа *TT SLCO1B1 rs4149056.* Ген *ABCB1* кодирует Р-гликопротеин: белок-переносчик метотрексата, обеспечивающий его выведение в просвет желчных капилляров. У пациентов с псориазом - носителей минорного аллеля Т снижается активность белка-переносчика, и метотрексат медленнее выводится из организма. Вследствие этого метотрексат в большем количестве доходит до рецепторов-мишеней, реализуется его цитотоксическое действие, что проявляется в повышении риска развития и выраженности нежелательных реакций. Ген *SLCO1B1* кодирует транспортный белок-переносчик органических анионов OATP1B1, который локализуется преимущественно на базолатеральной мембране гепатоцитов и осуществляет захват молекул метотрексата клетками печени. Носительство генотипа TT ассоциировано с более выраженным печеночным захватом молекул метотрексата, внутриклеточным накоплением метотрексата и его полиглутаматов, прямым гепатотоксическим действием и с большей вероятностью развития и выраженности гепатотоксичности у пациентов с псориазом.

На основе полученных данных сформулирован алгоритм персонализированного подхода к назначению метотрексата у больных псориазом. Предложена идея проведения фармакогенетического исследования до назначения терапии метотрексатом с целью решения проблемы повышения безопасности системной терапии псориаза. Научная идея позволит осуществлять определять группы пациентов, которые имеют высокий риск развития нежелательных реакций метотрексата: носителей аллеля *T ABCB1 (rs1045642)* и

носителей генотипа *TT SLCO1B1 (rs4149056)*, на основе алгоритма, включающего фармакогенетическое исследование. Полученные данные имеют существенное практическое значение при выборе тактики лечения больных псориазом: разработанный алгоритм прогнозирования безопасности терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза препаратом метотрексат с учетом фармакогенетического тестирования, позволяет персонализировано подойти к выбору тактики лечения пациентов с псориазом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации. Псориаз / А. А. Кубанов, А. Л. Бакулев, А. Э. Карамова [и др.] // Рубрикатор клинических рекомендаций – 2020. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/ – Текст: электронный
2. Methotrexate an Old Drug with New Tricks / Y. Bedoui, X. Guillot, J. Sélambarom [et al.] // Int J Mol Sci – 2019. V. 20 (20) – P. 5023
3. Campalani, E. Polymorphisms in Folate, Pyrimidine, and Purine Metabolism Are Associated with Efficacy and Toxicity of Methotrexate in Psoriasis / E. Campalani, M. Arenas, A. Marinaki // Journal of Investigative Dermatology – 2007. V. 127 (8) – P. 1860 – 1867

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДОМИМЕТИКА КАМП-1 В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA

Е.А. Бондарева[1,2], Е.М. Любушкина[1], М.С. Солдатова[1], Д.В. Ярославцев[1]

Научные руководители: д.м.н., профессор П.Г. Мадонов[1,2], д.м.н., профессор А.Н. Евстропов[2]

[1]Филиал Федерального исследовательского центра института цитологии и генетики Сибирского отделения российской академии наук Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии

[2]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Новосибирский государственный медицинский университет

Актуальность. Грибы рода Candida относятся к представителям условно-патогенной микрофлоры биотопов человеческого организма: в норме Candida spp. встречаются на кожных покровах, а также слизистых оболочках пищеварительного и урогенитального трактов здорового человека [1]. В настоящее время выделено более 170 Candida spp., из которых к возбудителям кандидоза относят порядка 20 видов. Наиболее часто выделяемыми у пациентов с проявлениями микозов считаются C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. glabrata, C. krusei [2].

Исходя из данных в литературных источниках, у здоровых людей C. albicans можно выделить при микробиологическом исследовании отделяемого верхних дыхательных путей в 20-30% случаев, на коже 30-50%, в тонком и толстом кишечнике – 50-70%, в испражнениях в 65-70% случаев, урогенительном тракте в 85-95%. Так же регистрируется носительство дрожжеподобных грибов Candida non-albicans: C. krusei, C. tropicalis, C. kefyr, C. glabrata, C. parapsilosis, C. kefyr, C. guilliermondii, C. rugosa, C. inconspicua, C. norvegensis, C. lusitaniae, C. lipolytica, C. famata, C. zeylanoide [1].

Чаще всего, при условии нормального функционирования иммунной системы, грибы не представляют опасности для здоровья человека. Но сбои в ее работе могут привести к кандидозам различной степени (поверхностные микозы кожи и слизистых желудочно-кишечного тракта, влагалища; хронические и висцеральные формы). К причинами возникновения заболеваний, вызванных грибами рода Candida можно отнести нейтропению, хирургические вмешательства, катетеризацию, травмы, иммуносупрессию, врожденные и приобретенные иммунодефициты, использование антибиотиков широкого спектра действия, применение гормональных препаратов, кортикостероидов, повреждение кожных покровов, нарушение гигиены, соматические заболевания, особенности диеты с преобладанием углеводов, особенности экологии, хронический стресс, бесконтрольное применение некоторых групп лекарственных препаратов, нарушающих гомеостаз организма и др. [3,4].

В виду возросшей частоты встречаемости кандидоза встает вопрос об эффективных

методах лечения его острых и хронических форм. При этом существующая противокандидозная терапия часто имеет временную эффективность и не защищает от рецидивов. Кроме того, существует опасение, что повторное лечение может вызывать лекарственную устойчивость, привести к изменению спектра видов Candida, увеличению частоты встречаемости nonalbicans резистентных видов [6,7]. В последние десятилетия регистрируется тенденция к снижению чувствительности грибов рода Candida к антимикотикам: устойчивость C. albicans к флуконазолу возросла более чем на 26%, к миконазолу увеличилась на 19%, к итраконазолу - на 38%. Резистентность C. glabrata к флуконазолу выросла на 14%, итраконазол практически потерял терапевтическую значимость. Согласно результатам исследования Ю.А. Кузнецовой, флуконазол утратил эффективность в отношении C. krusei [1,7]. При изучении чувствительности грибов к фунгицидным и фунгистатическим препаратам была зарегистрирована 100% устойчивость C. glabrata и C. krusei к кетоконазолу, амфотерицину В и итраконазолу. Отмечена тенденция к формированию резистентности возбудителей при хронической форме кандидоза к фунгистатическим препаратам из группы азолов в 2,5-3 раза чаще, чем при острой [1, 8].

Становится очевидной актуальность поиска новых веществ, обладающих противокандидозной активностью, и создание на их основе эффективных лекарственных препаратов. Антимикробные пептиды (АМП) являются неотъемлемой частью врожденного иммунитета у большинства живых существ. Могут эффективно преодолевать препятствия, связанные с традиционными антибиотиками, такими как более высокая частота множественной лекарственной устойчивости, ограниченная активность и системная токсичность. Кроме того, обладают широким спектром действия и скоростью достижения антимикробного эффекта [9]. АМП подают надежды как альтернативные компоненты лекарственных средств для проведения антимикотической терапии.

Одним из прототипов лекарственных средств является пептидомиметик, созданный по технологии пептидного синтеза в лаборатории фармакологических активных соединений НИИКЭЛ филиала ФИЦ ИЦИГ СО РАН. Рабочее название прототипа «короткий антимикробный пептид-1» (КАМП-1).

Цель исследования – оценить способность синтетического пептидомиметика КАМП-1 к ингибированию Candida spp. как в чистой кристаллической форме, так и в составе полиэтиленоксидного геля.

Материалы и методы. КАМП-1 (LTX-109) это синтетический антимикробный пептидомиметик, принадлежащий к классу коротких катионных антимикробных пептидов (SAMP). КАМП-1 устойчив к протеолитическому расщеплению. Это свойство обеспечивается малыми размерами молекулы: всего 0,8 кДа по сравнению, например, с дефензинами (2-6 кДа); присутствием модифицированного триптофана и концевой фенэтильной группы. КАМП-1 это

амфифильная молекула за счет присутствия двух гуанидиновых групп (от двух остатков аргинина в составе), которые всегда носят положительный заряд при физиологических значениях pH среды, с одной стороны, и наличия триптофана с тремя третбутильными («жирными») заместителями и концевой фенэтильной группы.

Для соединений подобных КАМП-1, предполагается механизм действия в соответствии с моделью Шая-Мацузаки-Хуанга (Shai-Matsuzaki-Huang model) [10,11].

Для изучения антифунгиальной активности применялся метод серийных разведений КАМП-1 в жидкой питательной среде. Методом «колодцев» в плотной питательной среде исследовалась антимикробная активность гелевой формы на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) с 0,05% содержанием изучаемого пептидомиметика.

В качестве тест-культур использовались штаммы C.albicans NCTC 885-653, C.glabrata KY22, C.parapsilosis KY23, C.krusei PY22, C.tropicalis PY23 в дозах $(0,5\text{-}2,5)\times10^5$ КОЕ/мл. Посевная доза 18-24ч культуры грибов определялась и контролировалась высевом на плотную питательную среду с дальнейшим подсчетом количества колониеобразующих единиц (КОЕ). Наименьшая доза вещества, при которой наблюдалось полное подавление роста тест-культуры, считалась минимальной ингибирующей концентрацией (МИК). Результаты представлены в табл.1.

Получение инокулюма осуществляли путем приготовления стандартных суспензий из суточных культур каждого штамма на физиологическом растворе оптической плотностью 0,5 по Mc Farland (содержание около $1\text{-}5\times10^6$ КОЕ/мл) с последующим разведением 1:10 для получения стандартизированной суспензии, содержащей $0,5\text{-}2,5\times10^5$ КОЕ/мл. Инокулюм использовали в течение 15 минут.

Изучение антимикробной активности ПЭГ 0,05 % геля проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ XV издания in vitro методом диффузии в агар с применением технологии «колодцев»: в стерильные чашки Петри вносили среду Сабуро в количестве 20 мл, чтобы сформировать необходимую толщину слоя в 4 – 5мм. Перед посевом чашки со средой подсушивали в термостате. Далее делали посев методом газона 1-2 мл готового стандартизированного инокулюма. Излишек взвеси удалялся, чашки подсушивали в течение 15 минут. Затем стерильным сверлом (d=6 мм) формировали отверстия («колодцы») на расстоянии 2,5 см от центра чашки Петри и на одинаковых расстояниях друг от друга, которые позже заполняли исследуемым гелем. Готовые посевы инкубировали в термостате при температуре 35°С в течение 48ч. не переворачивая, в горизонтальном положении с целью формирования округлых зон диффузии.

По истечении времени инкубирования измеряли диаметры зоны задержки роста с точностью до 1 мм, включая и размер самого колодца. Результаты отражены в табл. 2.

При значении диаметра зоны подавления роста более 10 мм расценивали как высокую чувствительность; 10 мм – средняя чувствительность; менее 10 мм – низкая чувствительность.

Результаты исследования. Изучаемый кристаллический образец синтетического пептидомиметика КАМП-1 проявил ингибирующую активность в отношении всех изучаемых тест-кульур грибов рода Candida. Практически идентичные данные по величине активной концентрации исследуемого компонента были получены для штаммов C.tropicalis PY23, C.krusei PY22, C.albicans NCTC 885-653 и составили порядка 40 мг/л. Значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) для штаммов C.glabrata KY22 и C.parapsilosis KY23 в два раза превысили показатели трех вышеуказанных видов грибов. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Инокулюм исследуемой культуры	МПК пептидомиметика КАМП-1 (мг/л)
C.glabrata KY22	80±12,08
C.tropicalis PY23	40±4,08
C.krusei PY22	40±3,34
C.parapsilosis KY23	80±10,22
C.albicans NCTC 885-653	40±5,58

Гель на основе ПЭГ с 0,05 % содержанием КАМП-1 показал положительный результат по подавлению роста тестируемых штаммов одноклеточных грибов. Высокую чувствительность к препарату проявили C.glabrata KY22, C.parapsilosis KY23. C.albicans NCTC 885-653 оказалась более устойчивой к действию препарата. Активность исследуемого геля в отношении культур C.tropicalis PY23 и C.krusei PY22 была низкой. Результаты эксперимента представлены в табл.2.

Таблица 2

Инокулюм тест-культур	Диаметр зоны задержки роста (мм) Опыт с ПЭГ гелем с 0,05% КАМП-1	Диаметр зоны задержки роста (мм) Контроль (гель без КАМП-1)
C.glabrata KY22	13.0±1	0
C.tropicalis PY23	10.0±1	0
C.krusei PY22	10.0±1	0
C.parapsilosis KY23	13.0±1	0
C.albicans NCTC 885-653	11.0±1	0

Выводы

1. Синтетический пептидомиметик обладает антимикотической активностью в отношении всех пяти тестируемых штамов Candida spp. in vitro.

2. При включении КАМП-1 в состав препарата на основе полиэтиленоксида его антимикробная активность сохраняется.

3. Синтезированный АМП можно рассматривать как возможный фармакологический ингредиент для противокандидозной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беженар М. Б., Плахова К. И. Механизмы развития резистентности к противогрибковым препаратам грибов рода Candida при рецидивирующем течении урогенитального кандидоза //Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2020. – Т. 38. – №. 1. – С. 15-23.

2. Куликов И. А. Перспективное лечение бесконечно повторяющегося вульвовагинального кандидоза //Медицинский совет. – 2020. – №. 13. – С. 157-165.

3. Еноктаева О. В. и др. Механизм формирования биопленок грибов рода Candida при кандидозной инфекции (обзор литературы) //Проблемы медицинской микологии. – 2021. – Т. 23. – №. 4. – С. 3-8.

4. Kavanagh K. Fungi: Biology and Applications. 3rd Edition. Wiley-Blackwell, 2017; 416 p. doi.org/10.1002/9781119374312

5. De Bernardis F., Arancia S., Sandini S., Graziani S., Norelli S. Studies of Immune Responses in Candida vaginitis. *Pathogens.* 2015; 4(4):697–707. doi: 10.3390/pathogens4040697.

6. Рахматулина М.Р., Цой Е.Г. Современные показатели резистентности грибов рода Candida к антимикотическим препаратам. Фарматека. 2017;1(17):22-24.

Rahmatulina MR, Coj EG. Modern indicators of the resistance of Candida fungi to antimycotic drugs. Farmateka. 2017;1(17):22-24. (In Russ.). https://pharmateca.ru/ru/archive/article/34548

7. Кузнецова Ю.А. Микробиологическая характеристика хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза у женщин Иркутской области: Дис. канд. мед. наук. Новосибирск. 2016.

Kuznecova YuA. Microbiological characteristics of chronic recurrent vulvovaginal candidiasis in women of the Irkutsk region: Dis. kand. med. nauk. Novosibirsk. 2016. (In Russ.). https://search.rsl.ru/ru/record/01006652857

8. Пашинина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Попова Л.П. Антимикотикорезистентность грибов Candida, выделенных из репродуктивного тракта женщин с воспалительными заболеваниями гениталий. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО

PAH. 2016;3:1-8. Pashinina OA, Kartashova OL, Pashkova TM, Popova LP. Antimycotic resistance of Candida fungi isolated from the reproductive tract of women with inflammatory diseases of the genitals (in Russian). Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2016;3:1-8. (In Russ.). https://elibrary.ru/item.asp?id=27033078

9. Иксанова А. М. и др. Антимикробные пептиды и белки в биожидкостях человека //Microbiology Independent Research journal. – 2022. – Т. 9. – №. 1. – С. 37-55.

10. A Synthetic Antimicrobial Peptidomimetic (LTX 109): Stereochemical Impact on Membrane Disruption. Johan Isaksson et al. dx.doi.org/10.1021/jm200450h | J. Med. Chem. 2011, 54, 5786–5795.

11. The Synthetic Amphipathic Peptidomimetic LTX109 Is a Potent Fungicide That Disturbs Plasma Membrane Integrity in a Sphingolipid Dependent Manner. Rasmus Bojsen et al. doi:10.1371/journal.pone.0069483 |

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Т.В. Брус, А.Г. Васильев

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации 194000, Санкт-Петербург, Литовская, 2, Россия

Резюме. В последние годы жировая дистрофия печени (ЖДИ) считается печеночным проявлением метаболического синдрома. Основным последствием ЖДП является дислипидемия, воспаление, усиление окислительного стресса и дисфункция эндотелия. Эндотелиальная дисфункция может быть связующим звеном между печеночной недостаточностью и патологией сердечно-сосудистой системы. По этой причине в настоящее время исследование причин и патогенетических механизмов, приводящих к эндотелиальной патологии, являются чрезвычайно важным. **Цель.** Выявить и сравнить дисфункцию эндотелия у лабораторных крыс при моделировании жировой дистрофии печени различной этиологии.

Материалы и методы. Исследование проведено на 100 крысах самцах линии Wistar, которые были разделены на 5 групп по 20 особей в каждой: контроль НАЖБП - крысы, у которых моделировалась неалкогольная жировая болезнь печени, АБП - крысы, у которых моделировалась алкогольная жировая болезнь печени, СЖБП - крысы, у которых моделировалась смешанная жировая болезнь печени, ХЖБП - крысы, у которых моделировалась холестерин индуцированной жировая болезнь печени. С целью оценки метаболических нарушений оценивали основные биохимические показатели, концентрацию основных провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-6 (ИЛ-6), эндотелиальную дисфункцию (эндотелии-1 (ЭТ-1)).

Результаты. У лабораторных крыс с НАЖБП, АБП, СЖБП и ХЖБП регистрировалось статистически значимое повышение в сыворотке крови внутрипеченочных ферментов. Синхронно регистрировалось статистически значимое повышение в сыворотке уровней ЭТ-1, ИЛ-1, ИЛ-6, что подтверждает корреляцию ЖБП с риском сердечно-сосудистых осложнений. Достоверное повышение этого показателя в сыворотке лабораторных крыс было выявлено в группах АБП, СЖБП, ХЖБП по сравнению с контролем. Самый высокий уровень ЭТ-1 регистрировался в группе СЖБП.

Выводы. Максимальная выраженность эндотелиальной дисфункции и системного потенциал: воспалительного ответа выявлена в группе животных со смешанной жировой дистрофией печени. Это обусловлено тем, что сочетание нескольких этиологических факторов (алкогольного и метаболического) предполагает более высокий повреждающий инсулинорезистентность, оксидативный стресс.

***Ключевые слова*:** жировая дистрофия печени, эндотелиальная дисфункция, стеатоз, стеатогепатит, эндотелии-1, крысы.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN THE PATHOGENESIS OF FATTY LIVER OF VARIOUS ETIOLOGIES

T.V. Brus, A.G. Vasiliev

St. Petersburg State Pediatric Medical University

(194000, St. Petersburg, Litovskaya str., 2, Russian Federation)

*** - corresponding author** Tatiana V. Brus, e-mail: bant.90@mail.ru

Abstract. In recent years, fatty liver disease (FLO) has been considered a hepatic manifestation of metabolic syndrome. The main consequences of FLO are dyslipidemia, inflammation, increased oxidative stress and endothelial dysfunction. Endothelial dysfunction may be a link between liver failure and cardiovascular pathology. For this reason, currently, research into the causes and pathogenetic mechanisms leading to endothelial pathology is extremely important. Target. To identify and compare endothelial dysfunction in laboratory rats when modeling fatty liver of various etiologies. **Aim.** To identify and compare endothelial dysfunction in laboratory rats when modeling fatty liver of various etiologies.

Materials and methods. The study was carried out on 100 male Wistar rats, which were divided into 5 groups of 20 animals each: NAFLD control - rats in which non-alcoholic fatty liver disease was modeled, AFLD - rats in which alcoholic fatty liver disease was modeled, MFLD - rats, in which mixed fatty liver disease was modeled, CIFLD - rats in which cholesterol-induced fatty liver disease was modeled. In order to assess metabolic disorders, we assessed the main biochemical parameters, the concentration of the main pro-inflammatory cytokines: interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), endothelial dysfunction (endothelin-1 (ET-1)).

Results. In laboratory rats with NAFLD, AFLD, MFLD and CIFLD, a statistically significant increase in intrahepatic enzymes was recorded in the blood serum. Simultaneously, a statistically significant increase in serum levels of endothelin 1, interleukin 1, and interleukin 6 was recorded, which confirms the correlation of FLO with the risk of cardiovascular complications. A significant increase in this indicator in the serum of laboratory rats was detected in the AFLD, MFLD, and CIFLD groups compared to the control. The highest level of ET-1 was recorded in the MFLD group.

Conclusions. The maximum severity of endothelial dysfunction and systemic inflammatory response was detected in the group of animals with mixed fatty liver degeneration. This is due to the fact that the combination of several etiological factors (alcoholic and metabolic) suggests a higher damaging potential: insulin resistance, oxidative stress.

Keywords: fatty liver, endothelial dysfunction, steatosis, steatohepatitis, endothelin-1, rats.

Актуальность. Жировая дистрофия печени (ЖДП) объединяет интересы различных специалистов (терапевтов, педиатров, кардиологов, гастроэнтерологов, эндокринологов). Она имеет широкую распространенность и социальную значимость.

Примерами патологии печени метаболического и токсического генеза являются неалкогольная (НАЖБП), алкогольная жировая болезни печени (АЖБП) и жировая дистрофия смешанного генеза (СЖБП). Согласно современным рандомизированным исследованиям, частота развития этих патологий неуклонно растет с каждым годом: распространенность АЖБП достаточно высока и составляет 25-40% среди взрослого населения; каждый третий пациент терапевта страдает НАЖБП [1,2]. Также, форма НАЖБП широко распространена среди детского населения [3].

Сочетание алкогольного и метаболического факторов предполагает более высокий повреждающий потенциал: усиление таких патогенетических механизмов, как системная воспалительная реакция, инсулинорезистентность, оксидативный стресс [4].

В свою очередь, печеночная недостаточность различной этиологии является фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Эндотелиальная дисфункция может быть связующим звеном между печеночной недостаточностью и патологией сердечно-сосудистой системы. По этой причине в настоящее время исследование причин и патогенетических механизмов, приводящих к эндотелиальной патологии, являются чрезвычайно важным [5,6].

В настоящее время, в виду отсутствия четкого понимания причин и механизмов развития гепатопатий неинфекционного генеза, нет эффективных методов профилактики и лечения этих состояний. Ключевую роль в изучении этиологии и патогенеза играет поиск адекватных экспериментальных моделей печеночной недостаточности.

Биомоделирование дает исследователю неограниченные возможности изучения причин болезни, поскольку есть прямая связь между действующим причинным фактором и развивающейся патологией. Модель искусственно конструируется, в результате чего становится возможным создать строго контролируемую совокупность воздействующих на организм факторов, в том числе, и патогенных, что невозможно осуществить в клинической практике.

Цель. Выявить и сравнить дисфункцию эндотелия у лабораторных крыс при моделировании жировой дистрофии печени различной этиологии.

Материалы и методы. Объект исследования: 100 самцов альбиносов крыс линии Wistar.

Исследование проведено на 100 крысах самцах линии Wistar с массой тела на момент включения в исследование 250-300 г на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения

Российской Федерации. Животные были получены из Питомника лабораторных животных Филиала ИБХ РАН в г. Пущино (Московская обл.), перед началом исследования животных изолировали в специальный бокс для прохождения 14-ти дневного карантина.

План исследования, стандартизированные операционные процедуры и сопроводительная документация прошли этическую экспертизу Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол №09/04 от 11.02.2022).

Всего было сформировано 5 групп лабораторных животных:

1. «Контроль» (n=20) — здоровые, интактные крысы, у которых исследовали параметры метаболизма для расчета фоновых, референсных значений («нормальные показатели»),

2. «НАЖБП» (n=20) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в качестве корма получали брикеты, содержащие пищевые компоненты в следующих соотношениях (по массе): 26% — белок, 10% — животный жир, 50% — фруктоза, 8% — целлюлоза, 5% — минеральные вещества, 1% — витамины [7].

3. «АБП» (n=20) - крысы, которые на протяжении всего эксперимента вместо питьевой воды получали 15%-ый раствор этанола.

4. «СЖБП» (n=20) - крысы, которые на протяжении всего эксперимента получали гиперкалорийную диету, на 30% насыщенную фруктозой и вместо питьевой воды 10%-ый раствор этанола [8].

5. «ХЖБП» (n=20) - крысы, которые на протяжении всего эксперимента получали гиперкалорийную диету, на 45% состоявшую из животного жира.

Ограничения в питьевом режиме, условия гиподинамии не вводились. Длительность эксперимента составила 30 суток.

С целью оценки метаболических нарушений у экспериментальных животных оценивали: биохимические показатели (активность ферментов щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ). Биохимическое исследование сыворотки крови лабораторных крыс выполнено с помощью анализатора StatFax 3300. Для выявления маркеров эндотелиальной дисфункции и системного воспаления исследованы уровни ЭТ-1, ИЛ-1, ИЛ-6, С-реактивного белка (СРБ), фактора некроза опухоли ФНО-а) с помощью иммуноферментного анализа. Для статистической обработки и анализа полученных результатов применялись пакеты Microsoft Office 2010 и 8 TATI 8 TIC A 10.0.

Результаты. Во всех экспериментальных группах регистрировался синдром цитолиза гепатоцитов разной степени выраженности: так уровень АЛТ и АСТ был максимально велик в группе СЖДП и составил соответственно 55,2+1,37 Ед/л и 145,5+2,3 Ед/л (рис.1).

Степень холестатического синдрома определялась по уровню ЩФ. Рост уровня этого фермента был достоверным во всех группах с ЖДП, наиболее выраженные изменения по сравнению с группой Контроль были выявлены в группе СЖБП (33,5 + 1,5 Ед/л) (рис. 1).

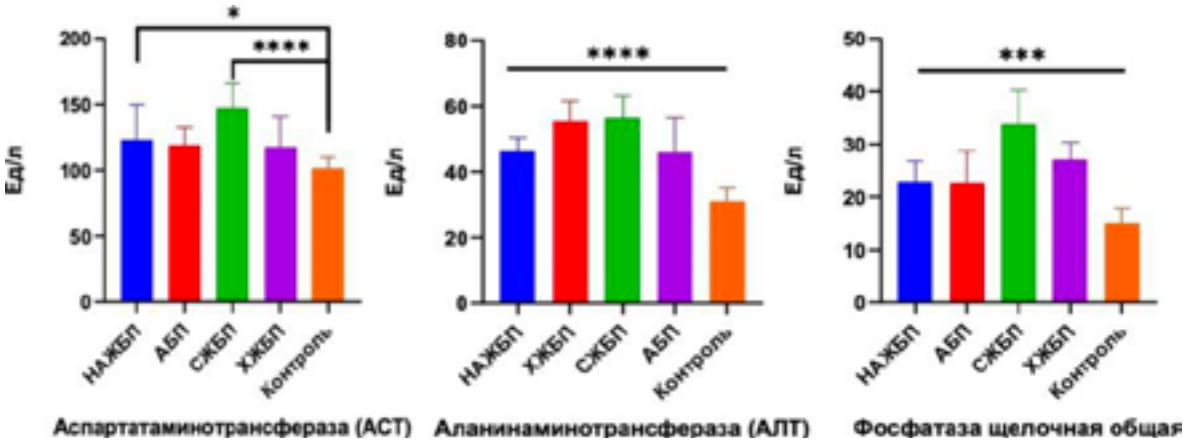


Рисунок 1. Изменение концентрации основных биохимических маркеров печени (АСТ, АЛТ, ЩФ) в сыворотке крови крыс экспериментальных групп
Примечание: * - p<0,05, *** - p<O,OOO3, **** - p < 0,0001, в сравнении с группой «Контроль».
Figure 1. Changes in the concentration of the main biochemical liver markers (AST, ALT, AP) in the blood serum of rats of the experimental groups.
Note: * - p<0.05, *** - p<0.0003, **** - p < 0.0001, compared with the “Control” group.

В экспериментальных группах оценивали уровень ЭТ-1 для диагностики возможно развившейся эндотелиальной дисфункции. Достоверное повышение этого показателя в сыворотке лабораторных крыс было выявлено в группах АБП, СЖБП, ХЖБП по сравнению с контролем. Самый высокий уровень ЭТ-1 регистрировался в группе СЖБП и составил 57,1 +1,5 пг/мл.

Для выявления степени системного воспалительного ответа в плазме крови определяли уровень провоспалительных цитокинов: СРБ, ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 (рис. 2).

Максимально выраженный рост уровня СРБ регистрировался в группе СЖБП (12,7+0,5 нг/мл). Однако уровень ФНО был самым высоким в группе ХЖБП (39,7+1,15 пг/мл). Достоверно высокий уровень ИЛ-1 был выявлен в группах АБП (11,1 + 1,7) и СЖБП (10,2+1,75 пг/мл). ИЛ-2 был максимально высоким в группе СЖБП и составил 30+2,25 пг/мл. Уровень ИЛ-6 был достоверно выше в группах НАЖБП (12,1+0,56 пг/мл) и СЖБП (10,11 + 1,16 пг/мл) по сравнению с контролем.

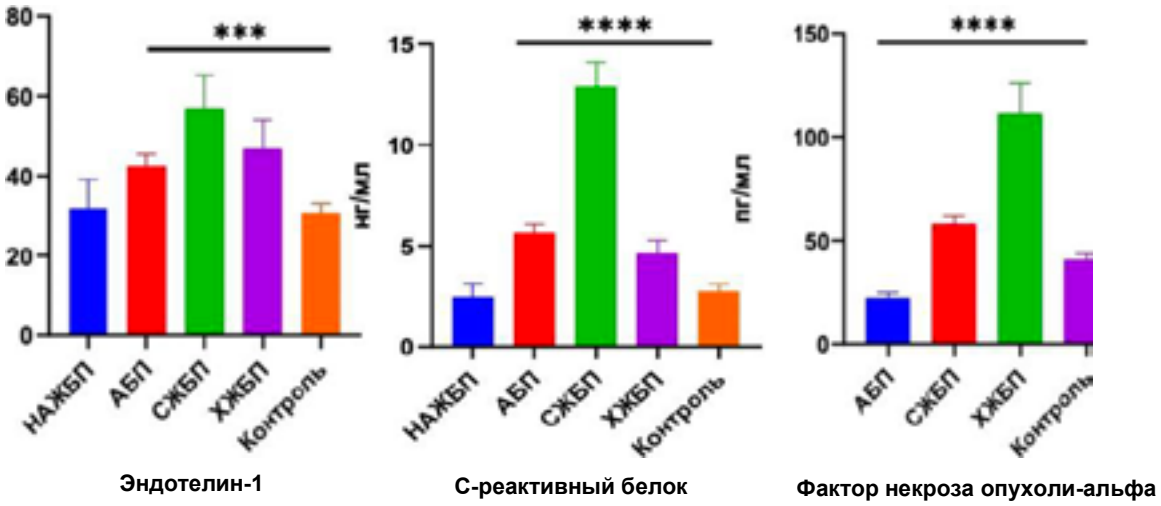
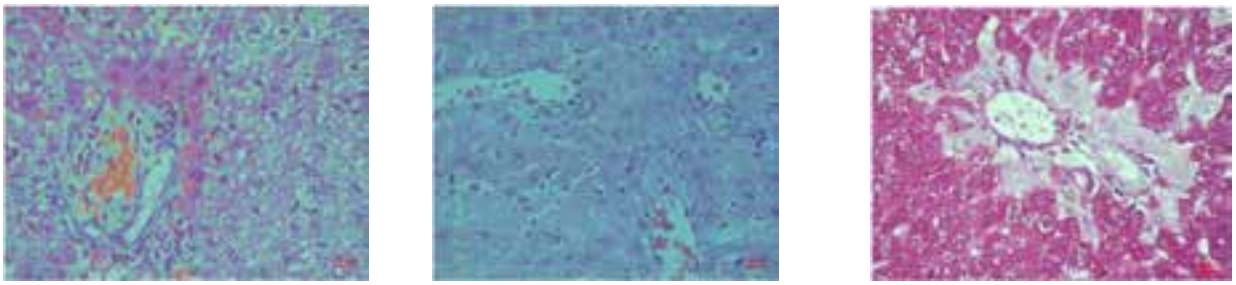


Рисунок 2. Изменение концентрации ЭТ-1, СРБ, ФНО-а в сыворотке крови крыс экспериментальных групп.
Примечание: *** - p<O,OOO3, **** - p < 0,0001, в сравнении с группой «Контроль».
Figure 2. Changes in the concentration of ET-1, CRP, TNF-a in the blood serum of rats of the experimental groups.
Note: *** - p<0.0003, **** - p < 0.0001, compared with the “Control” group.

Для оценки гистологических изменению произведена аутопсия фрагментов печени для дальнейшей окраски гематоксилин-эозином.

В группе НАЖБП регистрировались умеренная инфильтрация воспалительными клетками, полнокровие сосудов, умеренная пролиферация фибробластов. В группе АБП отмечается более выраженная воспалительная инфильтрация, разрастание соединительнотканных волокон. На макропрепарате печень у животных этой группы имела минимальные размеры и массу. В группе ХЖБП отмечается наиболее выраженная по сравнению с другими группами жировая инфильтрация гепатоцитов (в основном, крупнокапельная жировая дистрофия). Воспалительные и фибротические изменения выражены минимально. В группе СЖБП максимально выражена воспалительная инфильтрация, разрастание волокон коллагена, углеводная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рис. 3).



НАЖБП **АБП** **СЖБП**

Рисунок 3. Гистологические изменения в аутоптатах печени крыс экспериментальных групп (окраска гематоксилин-эозин, х40)
Figure 3. Histological changes in liver autopsy specimens from rats in experimental groups (hematoxylin-eosin staining, x40)

Обсуждение

Сочетание алкогольного и метаболического факторов предполагает более высокий повреждающий потенциал: усиление таких патогенетических механизмов, как системная воспалительная реакция, инсулинорезистентность, оксидативный стресс.

В 2020 году Международная группа экспертов, выступила с предложением интегрировать текущее понимание гетерогенности состояния пациента, обозначаемого аббревиатурой НАЖБП, и изменить терминологию на более точно отражающую патогенез с целью улучшения стратификации пациентов.

По мнению экспертов, применение в качестве основного диагностического критерия НАЖБП отсутствия значительного употребления алкоголя в анамнезе на практике крайне затруднительно. Это связано с методологическими проблемами в вопросниках, используемых для оценки употребления алкоголя, склонностью пациентов его занижать. Включение в название акронима «неалкогольный» часто вызывает недопонимание у пациентов, не употребляющих алкоголь и расценивающих этот диагноз в инверсии. В связи с этим термин должен быть заменен более точным, отражающим сущность болезни. Предпочтение отдано дефиниции «метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЖБП/MAFLD) [9].

Накопленные данные свидетельствуют о том, что сердечно-сосудистые заболевания чаще определяют исход у пациентов с жировой болезнью печени. При НАЖБП повышается риск тромбообразования, проатерогенной дислипидемии, гиперкоагуляции и гипофибринолиза [10]. Систематический обзор и мета-анализ семи перекрестных исследований (с участием в общей сложности 3497 человек) подтверждено, что неалкогольная жировая болезнь печени, диагностированная при ультразвуковом исследовании, тесно связана с увеличением медиальной толщины интимы сонных артерий и увеличением распространенности атеросклеротических бляшек в сонных артериях [11]. Некоторые исследования, подтвердили, что повышенный уровень аланинаминотрансферазы в сыворотке крови является достоверным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, т. к. является маркером не только жировой болезни печени, но и окислительного стресса [12].

Биологические механизмы, потенциально ответственные за ускоренный атерогенез при неалкогольной жировой болезни печени, вероятно, берут свое начало в избыточности висцеральной жировой ткани, при этом печень является одновременно мишенью возникающих

системных нарушений и источником проатерогенных молекул, которые усиливают повреждение артерий [13,14].

Из адипоцитов высвобождает широкий спектр молекул, потенциально вовлеченных в развитие резистентности к инсулину и атеросклероза, включая свободные жирные кислоты, ИЛ-6, ФНО-а, хемотаксический белок моноцитов-1, и другие провоспалительные цитокины [15-17].

Эндотелиальная дисфункция может быть связующим звеном между печеночной недостаточностью и патологией сердечно-сосудистой системы. По этой причине исследование причин и патогенетических механизмов, приводящих к эндотелиальной патологии, являются чрезвычайно важным [18].

Выводы. Таким образом, наибольшая степень выраженности воспалительного ответа и дисфункции эндотелия была зарегистрирована в группе СЖБП, что коррелирует с выраженностью цитолитического, холестатического синдромов, нарушением пигментного и липидного обменов.

Полученные результаты дополняют патофизиологические аспекты изучения состояния организма при ЖДИ, позволяют с помощью биохимических маркеров определить степень тяжести эндотелиальной дисфункции и системного воспалительного ответа, вовремя ее профилактировать и оценить результат лечения.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта ректора ФГБОУ ВО СПбГПМУ 2022 года.

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в это исследование.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Financing. The study was supported by a grant from the rector of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State Pediatric Medical University in 2022.

Authors' contributions. All authors made relevant contributions to this study.

Conflict of interest. The authors declare no conflicting interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rotonya M. Carr, Amanke Oranu, and Vandana Khungar. Non-alcoholic fatty liver disease: Pathophysiology and management. MScGastroenterol Clin North Am. 2016 Dec; 45(4): 639-652. DOI: 10.1016/j.gtc.2016.07.003
2. Лазебник Л. Б., Голованова Е. В., Туркина С. В. и др. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение.Рекомендации для терапевтов, третья версия. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021; 185(1): 4-52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52

[Lazebnik L.B., Golovanova E.V., Turkina S.V., et all. Non-alcoholic fatty liver disease in adults: clinic, diagnostics, treatment. Guidelines for therapists, third version. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2021;l(l):4-52. (In Russ.) https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-185-l-4-52

3. DiStefano J.K., Shaibi G. Q. The relationship between exces- sive dietary fructose consumption and paediatric fatty liver disease. PediatrObes. 2020 Dec 11: el2759. DOI: 10.1111/ijpo. 12759
4. Cerovic I, et al. Alcoholic liver disease/nonalcoholic fatty liver disease index: distinguishing alcoholic from nonalco- holic fatty liver disease. Eur I Gastroenterol Hepatol. 2013 Aug;25(8):899-904
5. Federico A, Dallio M, Masarone M, Persico M, Loguercio C. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and its connection with cardiovascular disease: role of endothelial dysfunction. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016 Nov; 20(22): 4731-4741.
6. Трашков А Н, Брус ТВ, Васильев А.Г. и др. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени. Russian biomedical research. 2017. 2(4): 11-17 [Trashkov A P, Brus TV, Vasil'ev A G et all. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease [Endotelial'naya disfunkciya v patogeneze nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni] / Russian biomedical research. 2017. 2(4): 11-17 (In Russ.)]
7. Ackerman Z. Fructose-Induced Fatty Liver Disease Hepatic Effects of Blood Pressure and Plasma Triglyceride Reduction. Hypertension. - 2005. - Vol. 45. - P. 1012-1018.
8. Брус ТВ, Васильев АТ, Трашков А Н и др. Способ моделирования жировой болезни печени смешанного генеза у крыс. Патент 2757199. Российская Федерация МПК A61D 99/00, G09B 23/28, C13K 11/00. - № 2020139933; заявл. 03.12.2020, опубл. 12.10.2021, Бюл. №29.
[Brus TV, Vasil'ev A G , Trashkov A.P. et all. A method for modeling fatty liver disease of mixed origin in rats [Sposob modelirovaniya zhirovoj bolezni pecheni smeshannogo geneza u krys] Patent 2757199. Russian Federation IPC A61D 99/00, G09B 23/28, C13K 11/00. - No. 2020139933; application 03.12.2020, publ. 10/12/2021, Bulletin. No. 29 (In Russ.)].
9. Eslam M, Newsome PN, Anstee QM, et al. A new definition for metabolic associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. Journal of Hepatology. (2020), DOI: 10.1016/j.jhep.2020.03.039
10. Martinez Coria A, Estrada-Cruz NA, Ordonez MIP, Montes-Cortes DH, Manuel-Apolinar L. Echography analysis of musculoskeletal, heart and liver alterations associated with endothelial dysfunction in obese rats. BMC Endocr Disord. 2020 Aug 14;20(l): 124. DOI: 10.1186/sl2902-020-00603-7.
11. Lee Y.J., Shim J.Y., Moon B.S., et al. The relationship between arterial stiffness and nonalcoholic fatty liver disease. Dig Dis Sci 2012; 57:196-203.

12. Sookoian S., Pirola C.J. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. J Hepatol. 2008; 49:600-7.
13. Geng Y., Arroyave-Ospina J.C., Buist-Homan M. et all. Differential effects of oleate on vascular endothelial and liver sinusoidal endothelial cells reveal its toxic features in vitro. J Nutr Biochem. 2023. 114:109255. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2022.109255.
14. Kramer B, Franga LM, Zhang Y, Paes AMA, Gerdes AM, Carrillo-Sepulveda MA. Western diet triggers Toll-like receptor 4 signaling-induced endothelial dysfunction in female Wistar rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2018 Dec 1;315(6):H1735-H1747. DOI: 10.1152/ajpheart.00218.2018.
15. Gonzalez-Dominguez A, Visiedo-Garcia FM, Dominguez-Riscart I, Gonzalez-Dominguez R, Mateos RM, Lechuga-Sancho AM. Iron Metabolism in Obesity and Metabolic Syndrome. Int I Mol Sci. 2020;21(15):5529. DOI: 10.3390/ijms21155529
16. Hemandez-Bustabad A, Morales-Arraez D, Gonzalez-Paredes FI, Abrante B, Diaz-Flores F, Abreu-Gonzalez P, de la Barreda R, Quintero E, Hernandez-Guerra M. Chronic intermittent hypoxia promotes early intrahepatic endothelial impairment in rats with nonalcoholic fatty liver disease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2022 1;323(4):G362-G374. DOI: 10.1152/ajpgi.00300.2021.
17. Zhang Q, Yu I, Guo T, Tian L, Quan I, Lin W, Niu XE, Liu I. High glucose/ox-LDL induced hepatic sinusoidal capillarization via avP5/FAK/ERK signaling pathway. Biochem Biophys Res Commun. 2019 Jun ll;513(4):1055-1062. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.04.082.
18. Shi Z, Tuomilehto L, et al. The circadian syndrome predicts cardiovascular disease better than metabolic syndrome in Chinese adults. J Intern Med. 2020 Dec 19. DOI: 10.1111 / joim. 12924

Контактная информация

Брус Татьяна Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО СПбГПМУ, e-mail: bant.90@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7468-8563, SPIN 9597-4953.

Васильев Андрей Глебович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО СПбГПМУ, e-mail: avas7@mail.ru https://orcid.org/0000-0002-8539-7128, SPIN 1985-4025.

КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РАЗВИТИИ ФИБРОЗА

М.А. Виговский, лаборант-исследователь лаборатории репарации и регенерации тканей Института регенеративной медицины МНОЦ МГУ

Введение. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) признаны важнейшими регуляторами процессов репарации и регенерации поврежденных тканей. Во многих исследованиях была показана способность фракции внеклеточных везикул секретома МСК (ВВ) предотвращать вызванное повреждением развитие фиброза. Однако, в результате изменения микроокружения при повреждении состав секретома МСК может существенно меняться. Ранее в нашей лаборатории было показано, что МСК, культивируемые в профибротических условиях, демонстрируют признаки индуцированного клеточного старения (сенесценции).

Цель. Изучить как профибротическое микроокружение влияет на морфофункциональные характеристики МСК, а также оценить антифибротический потенциал ВВ таких МСК в in vitro и in vivo моделях фиброза.

Материалы и методы. Профибротическое микроокружение моделировали культивированием МСК на децеллюляризированном внеклеточном матриксе фибробластов (ВКМ) при добавлении в среду роста TGFP в конечной концентрации 5 нг/мл (сенМСК). В качестве референсной модели использовали индукцию сенесценции перекисью водорода H2O2 (оксиМСК). В качестве маркеров сенесценции использовали выявление SA-|3Gal и ИЦХ с антителами к p21. В качестве in vitro модели фиброза использовали дифференцировку миофибробластов под действием TGFJ3, эффективность антифибротического воздействия везикул оценивали по подавлению накопления aSMA клетками методом вестерн-блоттинг и ИЦХ. Фиброз in vivo индуцировали у мышей разного возраста (4-6 нед. и 20-24 нед.) интратрахеальным введением блеомицина, через 14 дней интратрахеально однократно вводили ВВ МСК/сенМСК. Фиброз легких оценивали по результатам МРТ и в конечной точке через 14 дней после введения ВВ по модифицированной гистологической Ashcroft scale, также оценивали бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) на процент Lin+ cells.

Результаты. МСК в профибротических условиях накапливают SA-^Gal и p21 ингибитор клеточного цикла, то есть приобретают признаки сенесцентных клеток. С помощью анализа транскриптома единичных клеток (10x Genomics) мы выявили остановку клеточного цикла, метаболические перестройки и признаки эпигенетических изменений, характерных для сенесцентных клеток и возраст- ассоциированных изменений, при этом отдельных более или менее подверженных сененсценции субпопуляций обнаружено не было, что позволило нам продолжить работать с тотальной популяцией МСК. In vitro на модели дифференцировки миофибробластов мы обнаружили снижение эффективности ВВ сенМСК в 2-2,5 раз по сравнению с ВВ контрольных МСК (p=0.05). In vivo нам удалось показать, что у молодых мышей

восстановление нормальной легочной ткани происходит при введении как ВВ МСК, так и ВВ сенМСК на 14 день терапии (хотя для последних намечается тенденция к снижению эффективности [p=0.09]). У старых мышей терапия ВВ МСК способствует эффективному восстановлению функциональной ткани, в то время как ВВ сенМСК оказываются значимо менее эффективны ($p<0.01$). Проанализировав состав БАЛ старых и молодых мышей с блеомицин-индуцированным фиброзом легких, мы обнаружили значительное повышение базального уровня Lin+ cells у старых мышей и в этой же группе выявили тенденцию к снижению ($p<0.05$) после введения ВВ МСК, но не ВВ сенМСК.

Заключение. Профиброзное микроокружение индуцирует сенесценцию МСК и приводит к снижению их антифибротического эффекта, при этом в модели in vivo мы выявили, что у молодых животных эффект оказывают ВВ и контрольных и сенесцентных МСК, а у старых животных ВВ сенМСК утрачивают способность подавлять фиброз легких, что, вероятно, связано с комплексным возраст- ассоциированным изменением микроокружения у старых животных.

СТАНДАРТИЗИРОВАННЫЕ ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА С СТРЕССПРОТЕКТИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

А.А. Гостюхина, О.С. Дорошенко, Л.А. Азаркина

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии» Федерального медико-биологического агентства Россия, г. Москва

Введение. На сегодняшний день спортивная деятельность человека реализуется через фазовый процесс адаптации [1]. В последнее десятилетие данная проблема приобрела существенное практическое значение. В основе современного профессионального спорта лежит необходимость максимально реализовать генетически детерминированные адаптационные способности здорового организма в условиях экстремальных физических и психоэмоциональных нагрузках [2] При этом организм спортсмена часто подвергается воздействию, превышающему его адаптивные возможности, что приводит к истощению энергетических ресурсов, снижению функциональных возможностей и развитию патологии отдельных органов и систем.

Для повышения и коррекции адаптивных возможностей организма, например, для спортсменов в период соревнований и восстановления организма от тренировочных и соревновательных нагрузок используют различные препараты на основе природного сырья (пчелиного маточного молочка, прополиса, пантов, растительные экстракты и др.), которые обладают адаптогенными свойствами. Однако указанные препараты обладают следующими недостатками: высокой экономической стоимостью, технологическими сложности производства и стандартизации. Для устранения этих недостатков предлагается использовать гуминовые кислоты, которые являются основной фракцией гуминовых веществ, одного из видов биологически активных веществ естественного происхождения. Гуминовые кислоты (ГК) нашли самое широкое применение в сельском хозяйстве и медицине. Более того, технологические процессы с их участием удовлетворяют базовым принципам «Green Chemistry». Гуминовые кислоты (ГК) являются биологически активными веществами, выделяемыми наиболее часто из торфов и сапропелей и считаются достаточно безопасными для здоровья человека [3]. В эксперименте выявлено ряд уникальных свойств ГК (антигипоксические, антиоксидантные, дезинтоксикационные, противовоспалительные, энергооптимизирующие, цитопротекторные [4], которые обосновывают возможность их использования в медицинской практике. Таким образом, цель настоящего исследования являлась изучение сравнительной эффективности гуминовых кислот с официнальным препаратом на основе янтарной кислоты и еѐ производных

(этилметилгидроксипиридина сукцинатом) при экстремальных физических нагрузках в эксперименте.

Методика исследования

Эксперимент выполнен в осенний период года (сентябрь) на 60 половозрелых самцах крыс «Wistar» массой 220-250 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария на обычном рационе со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами обращения с лабораторными животными, а также Принципами надлежащей лабораторной практики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУН ТНИИКиФ ФМБА России (протокол No3 от 22.03.2012).

Животных рандомизировали на 6 групп (по 10 особей в каждой): 1-я группа (интактная) – животные, которых не подвергали экспериментальным воздействиям; 2-я группа (контроль 1) – животные, которые получали только физическую нагрузку; 3-я группа (контроль 2) – животные, получали внутримышечно 0.9% раствор NaCl (0.5 мл/100 г массы) за 30 мин до физической нагрузки; 4-я группа (контроль 3) – животные, получали внутрь с помощью зонда 0.9% раствор NaCl (0.5 мл/100 г массы) за 30 мин до физической нагрузки; 5-я – животные получали внутримышечно этилметигидроксипиридина сукцинат в дозе 10 мг/кг, исходя из минимальной разовой дозы для человека (100 мг) и коэффициентов пересчета [5] за 30 мин до физической нагрузки; 6-я – получала внутрь с помощью зонда 1% раствор стандартизованных ГК (0.5 мл на 100 г массы крысы) за 30 мин до физической нагрузки.

ГК выделяли по методике [4] из низинного древесно-травяного вида торфа месторождения «Таган» Томской области. Стандартизацию проводили согласно ранее описанным критериям [6].

В качестве модели физической нагрузки использована методика принудительного плавания крыс до полного утомления в модификации [7]. Плавательный тест проводили ежедневно в течение 5 дней подряд параллельно во всех группах в одно и то же время (с 10:00 до 11:00 ч) в стеклянном аквариуме прямоугольной формы с размерами 100см×100см×20см с утяжеляющим грузом равным по весу 10 % от массы тела конкретной особи при температуре воды 26 -28 C^{o} до полного утомления. Поскольку поведенческая активность животных является интегральным показателем функционального состояния организма и отражает его реакцию на различные воздействия (стресс), то через сутки после завершения плавательноготеста крыс тестировали в «открытом поле», оценивая за 3 мин горизонтальную активность (количество полностью пересеченных квадратов поля), вертикальную активность (количество вставаний на задние лапы), груминг (количество чисток шерстки), норковую активность (количество заглядываний в отверстия в центре квадратов) и уровень дефекаций (количество экскрементов). После данного теста животных выводили из эксперимента одномоментным декапитированием под CO2-наркозом с забором периферической крови. Далее в сыворотке общепринятыми

методами определяли уровень лактата, как показателя состояния тренированности и анаэробного метаболизма организма, а также содержание кортикостерона как основного показателя степени стрессированности.

Полученные данные статистически обрабатывали в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3). Проводили анализ множественных сравнений непараметрическими тестами Фридмана и Крускала-Уоллиса. Достоверность различий между группами определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, используемого для двух независимых выборок, и критерий Вилкоксона – для проверки различий между зависимыми выборками ($p<0.05$). Для оценки характера распределений между группами применяли критерий $\chi 2$.

Результаты исследования

В результате проведенного исследования показано, что группе 2, получавшей только физическую нагрузку в виде плавательного теста, начиная со 2 дня его предъявления, наблюдалось постепенное нарастание времени плавания (таб. 1) и его стабилизация. Пик работоспособности приходился на 4 день, когда она увеличивалась по сравнению с первым днем на 47% ($p<0.01$). Следовательно, у животных этой группы происходил тренировочный процесс, который протекал в две фазы – тревоги и резистентности [8]. На формирование резистентности указывают данные по кортикостерону и лактату, содержание которых в сыворотке крови крыс этой группы после физической нагрузки сохранялись на уровне аналогичного показателя животных группы 1 (таб. 2). Однако, увеличение актов дефекации при изучении поведения в тесте «открытое поле» свидетельствует о сохранении у животных эмоционального напряжения в этих условиях [9].

Таблица 1. Сравнительное влияние гуминовых кислот, этилметилгидроксипиридина сукцината на работоспособность крыс в плавательном тесте до состояния утомления

Дни плавания	1 день, с	2 день, с	3 день, с	4 день, с	5 день, с
Группа 2 Физическая нагрузка	38 (34;46)	48 (45;55) *=0.012	55 (45;66) *=0.008	56 (39;58) *=0.008	48 (41;58) *=0.01
Группа 3 Физическая нагрузка + внутримышечно физиологический раствор	65 (55;81) **=0.008	59 (50;66)	66 (62;72)	69 (61;83)	62 (47;69)
Группа 4 Физическая нагрузка + внутрь физиологический раствор	54 (42;73)	75 (55;79)	58 (47;74)	80 (65;91) *=0.03	69 (58;85)

Группа 5 Физическая нагрузка + внутримышечно этилметилгидроксипиридина сукцинат	54 (52;62)	67 (62;74)	74 (65;80) *=0.05	97 (77;112) *=0.03	94 (73;105) *=0.05
Группа 6 Физическая нагрузка + внутрь гуминовые кислоты	68 (58;94)	74 (61;104)	102 (73;112) *=0.03	99 (78;127) *=0.008	97 (63;113)

Примечание: результаты представлены в виде Me (Q1;Q3). Межгрупповое сравнение проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

* – уровень статистической значимости по отношению к первому дню плавания соответствующей группы.

** - уровень статистической значимости по отношению к первому дню плавания группы 2 (физическая нагрузка).

Таблица 2. Сравнительное влияние гуминовых кислот, этилметилгидроксипиридина сукцината на поведение крыс в «открытом поле», уровни кортикостерона и лактата в сыворотке крови после 5 дней предъявления плавательного теста

Фиксируемая активность и группы животных	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Акты груминга	Норковый рефлекс	Акты Дефекации	Кортикостерон, нг/мл	Лактат, ммоль/л
Группа 1	28 (17;39)	10 (5;34)	1 (0.8;2.2)	5 (2;5)	1 (0.7;2)	190,2 (51.1;254.8)	4,1 (3.5;4.8)
Группа 2 Физическая нагрузка	31 (23;42)	10 (8;16)	0.5 (0;1)	2 (0;4)	3.5 (3;4) **p_0=0.01**	199.8 (154.3;216.5)	4.5 (4.4;5.1)
Группа 3 Физическая нагрузка + внутримышечно физраствор	31 (26;34)	5.5 (4;11) **P_1=0.02**	0.5 (0;1.5)	3.5 (3;8) **p_1=0.05**	1.5 (1;3)	266.2 (232.1;313.1) **p_0=0.05** **p_1=0.016**	5.1 (3.5;6.1)
Группа 4 Физическая нагрузка + внутрь физраствор	30 (29;33)	6 (4;9)	1,5 (0.3;2.7) **p_1=0.04**	1.5 (1;2)	2 (2;2)	59.7 (20.5;86.5) **p_1=0.04**	2.9 (2.7;3.5) **p_1=0.002**
Группа 5 Физическая нагрузка + внутримышечно этилметилгидроксипиридина сукцинат	30 (22;35)	4.4 (4;11) **p_1=0.05**	0.5 (0;1.8)	1 (0.3;2.5) **p_3=0.05**	1.5 (1;2.8)	150.2 (114.6;177.4) **p_3=0.05**	5.2 (4.1;7.6)
Группа 6	28	5.5	0	2	2	239.5	3.6

Физическая нагрузка + внутрь гуминовые кислоты	(17;40)	(2.5;7.8) **p_0=0.05** **p_1=0.05**	(0;0) **p_0=0.02** **$p_{1,2}$=0.04**	(1;3)	(0.3;2.8)	(216.7;293.5) **p_2=0,03**	(3.3;3.8) **p_1=0.004**

Примечание: результаты представлены в виде Me (Q1;Q3). Межгрупповое сравнение проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. p_0 – уровень статистической значимости по отношению к группе 1, p_1 – уровень статистической значимости по отношению к группе 2, p_2 - уровень статистической значимости по отношению к группе 3, P_3 - уровень статистической значимости по отношению к группе4.

В группе животных (3), получавших за 30 мин физиологический раствор для инъекций внутримышечно, уже в первый день время плавания было почти в 2 раза выше (на 71%, $p<0.05$), чем в группе 1 в этот срок и сохранялось на этом уровне до конца эксперимента, т.е. до 5 дня, повышаясь всего на 5-6% ($p>0.05$) (таб. 1) . Следовательно, в этой группе формировалась сразу перекрестная адаптация согласно Ф. Меерсону (1988) [8], на что указывает и уровень кортикостерона и лактата в сыворотке крови этой группы (таб. 2). В сравнении с аналогичными показателями группы 1 (физическая нагрузка), первый показатель возрастал, а второй – не изменялся, т.е. животные после 5 дня плавания находились в стадии тревоги или резистентности, но не истощения. Об этом же свидетельствует и поведенческий тест в «открытом поле». Тест показал одновременное понижение вертикальной активности и активация норкового рефлекса (таб. 2), что демонстрирует отсутствие влияния на процессы возбуждения, происходит их перераспределение, а уменьшение актов дефекации указывает на ослабление тревожности у животных.

В группе животных (4), которым вводили за 30 мин перед плавательным тестом внутрижелудочно физиологический раствор, с использованием которого был приготовлен раствор гуминовых кислот, тренировочный процесс развивался медленно и только к 4 дню, однако уже на 5 день - приостанавливался. При этом существенного повышения работоспособности в сравнении с группой 2 (только физическая нагрузка) не наблюдалось. От 1 к 4 дню она увеличивалась на 48% ($p<0.01$), как и в группе 2 (таб. 1). Следовательно, дополнительное подключение стрессорного фактора в виде введения растворителя ГК в желудок, ухудшало тренировку и у животных быстро развивалось истощение, о чем свидетельствует резкое падение уровней кортикостерона и лактата в сыворотке крови после 5 дней предъявления плавательного теста [10]. Что касается поведения, то после всех нагрузок у крыс этой группы увеличилось количество актов груминга (табл. 2), что указывает на активацию тормозных процессов, предупреждающих истощение ЦНС.

Таким образом, две группы, получавшие физиологический раствор разными способами введения, реагировали на них по-разному. Вероятно, внутримышечные инъекции были для них

более мягким стрессором, чем внутрижелудочное введение через зонд, поэтому инъекции с первого предъявления адаптировали животных к последующей физической нагрузке, а внутрижелудочное введение, как более сильное стрессорное воздействие, сопровождалось истощением после короткой тренировки. О неоднозначной степени стрессированности животных при разных способах контрольных исследований свидетельствуют и другие авторы [11].

У животных, получавших этилметилгидроксипиридина сукцинат в виде инъекций, исходная работоспособность не отличалась от соответствующего контроля (т.е. группа 2). Однако ко 2 дню, также, как и в группе 2, и в последующие дни она нарастала в сравнении с соответствующим показателем в первый день, а к 4 дню стабилизировалась, при этом повышение работоспособности животных было на 79% ($p<0.05$). Иначе говоря, в условиях действия этого препарата сохранялась способность животных к тренировке, причем ее динамика повторяла динамику аналогичного показателя группы 2 (таб. 1). Уровень кортикостерона в сыворотке крови этой группы животных был существенно выше, чем в контрольной группе 3 и не отличался от аналогичного показателя в группе 2 (таб. 2). Следовательно, этилметилгидроксипиридина сукцинат продемонстрировал не только противострессорное действие, но и актопротекторное. Об этом же свидетельствует и уровень лактата в сыворотке, который не отличался от аналогичных показателей в группы 1,2,3 а также показатели поведенческой активности крыс в «открытом поле» (таб. 2). Под влиянием этилметилгидроксипиридина сукцината, который проявляет, в основном, седативное действие [12], у крыс после пяти дней плавательного теста в сравнении с соответствующим контролем подавлялись процессы возбуждения, поскольку ослаблялся норковый рефлекс. Следует подчеркнуть, что аналогичные результаты были получены другими исследователями [12].

В группе 6 крыс, которым перед физической нагрузкой вводили стандартизированные гуминовые кислоты внутрь, получены похожие результаты. И хотя исходная работоспособность у группы животных была в 2 раза выше, чем аналогичная в группе 2, но она не отличалась от таковой в группе 4, получавшей внутрь физиологический раствор (таб. 1). Следует подчеркнуть, что в этой группе также наблюдалась стимуляция работоспособности, но в меньшей степени, чем под влиянием этилметилгидроксипиридина сукцината (на 50% $p<0.05$). При этом не отмечалось истощения в стероидогенезе, поскольку содержание кортикостерона в сыворотке в этой группе было существенно выше, чем в соответствующем контроле (т.е. группа 4), и не отличалось от аналогичного показателя в группе животных 1 и 2 (таб. 2).

Повышение уровня лактата в крови в сравнении с соответствующим контролем, хотя и не имело достоверности, но все же указывает на тенденцию к нормализации энергетического обмена гуминовыми кислотами в условиях многокомпонентного стресса. Уменьшение эпизодов

груминга свидетельствует об оптимизации поведения в этой группе животных в сравнении с соответствующим контролем.

Таким образом, стандартизированные ГК из торфа низинного древесно-травяного вида торфа месторождения «Таган» Томской области продемонстрировали в эксперименте сравнимые с официнальным препаратом противострессорную активность и профилактическое действие в отношении утомления при физической нагрузке. Они могут быть рекомендованы в качестве компонента для разработки препаратов, повышающих работоспособность и стрессоустойчивость человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фудин Н.А., Вагин Ю.Е. Системная организация спортивной деятельности // Вестник новых мед. технологий. – 2013. – № 1. – С. 2–82.
2. Кулиненков О.С. Фармакологическая помощь спортсмену: коррекция факторов, лимитирующих спортивный результат. М.: Советский спорт, 2007. – 141 с
3. Бамбалов Н.Н. Использование торфа в качестве органического сырья для химической переработки // Химия твердого топлива. – 2012. – N 5. – С. 6-12.
4. Zykova M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V. et al. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins // Molecules. – 2018. – Vol. 23, no 4. – P. 753-768.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: монография / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян, А.Н. Васильев [и др.]; Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.
6. Патент на изобретение РФ № 2727692 Средство гуминовой природы для повышения физической работоспособности и выносливости / М.В. Зыкова, М.В. Белоусов, Т.А. Замощина и др. – Опубликовано: 22.07.2020. – Бюл. № 21. – 8 с.
7. Патент на изобретение РФ № 2617206 Способ моделирования физического переутомления у крыс в условиях десинхронозов / Гостюхина А.А., Зайцев К.В., Замощина Т.А. и др. – Бюл. № 12– 7 с.
8. Румянцева Э.Р., Горулев П.С. Спортивная подготовка тяжелоатлеток. Механизмы адаптации: монография. – Москва: Теория и практика физической культуры, 2005. – 260 с.
9. Гостюхина А.А., Замощина Т.А., Светлик М.В. и др. Поведенческая активность крыс в «открытом поле» после световой или темновой депривaций и физического переутомления // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. –Т. 15, N 4. – С. 136-144.

10. Замощина Т.А., Гостюхина А.А., Зайцев К.В. и др. Динамика работоспособности и уровень лактата в сыворотке крови лабораторных крыс в зависимости от сезона года // Экология человека. – 2020. – N 10. – С. 17-22.
11. Томова Т.А., Замощина Т.А., Федоруцева Е.Ю. и др. Сезонные влияния пептида gly-pro на секреторную функцию желудка у крыс с разной реактивностью центральной нервной системы // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. –2017. –N 6(142). – С. 66-71.
12. Воронина Т.А., Капица Е.А., Иванова Е.А. Сравнительное исследование влияния мексидола и милдроната на физическую работоспособность в эксперименте // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. –N 4 (117). – С. 71-74.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В ПАТОФИЗИОЛОГИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

М.С. Губенко, В.И. Логинов, А.М. Бурденный

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация

В работе проведен анализ изменения уровня метилирования десяти генов микроРНК - *MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, MIR339* и пяти БКГ - *APAF1, BAX, BCL2, BIM, DAPK* при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) и его гистологических подтипах: аденокарциноме (АДК) и плоскоклеточном раке легкого (ПКР). Выполнен анализ корреляций метилирования исследованных генов со стадией, размером опухоли, метастазированием, дифференцировкой и курением. Нами выявлен повышенный уровень метилирования 8 генов (*MIR124-1/3, 125B-1, 129-2, 137, 1258* и *339*) при АДК и ПРЛ в сравнении с нормальной тканью. Кроме того, определен высокий уровень *MIR124-2* только при ПРЛ. Также обнаружены специфичные отличия в уровнях метилирования ряда генов миРНК на более поздних стадиях для АДК и ПРЛ. Так, значимо высокий уровень метилирования на III-IV стадии при ПРЛ характерен только для *MIR124-2, MIR129-2* и *MIR339*, а при АДК для *MIR137* и *MIR1258*. При анализе результатов уровня метилирования белок-кодирующих генов высокий уровень метилирования в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью выявлен для четырех генов - *APAF1, BAX, BIM* и *DAPK1*, а деметилирование отмечено для гена *BCL2*.

***Ключевые слова*:** *миРНК, БКГ, метилирование, аденокарцинома, плоскоклеточный рак легкого, НМРЛ*

Адрес для корреспонденции: Губенко Марина Сергеевна artz_marina@mail.ru

В последнее время количество онкологических заболеваний в России и мире неуклонно растет. Одно из лидирующих мест по заболеваемости среди них занимает рак легкого. По смертности данный вид онкологии занимает первое место среди мужчин и женщин как в России, так и в мире. Рак легкого представляет собой группу гетерогенных злокачественных новообразований легкого с различными гистологическими подтипами. Более 80% всех типов опухолей лёгкого занимает немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Одной из причин, приводящей к развитию этого вида рака, являются нарушения в гомеостазе клеток, вызванные аномальным метилированием в ДНК генов-домашнего хозяйства клетки и генов микроРНК (миРНК).

Целью исследования являлось определение роли аномального метилирования ДНК пяти белок-кодирующих генов (БКГ) и десяти генов миРНК в патогенезе НМРЛ. Для достижения

поставленной цели сформулированы следующие задачи: оценить изменение уровня метилирования в промоторных CpG-островках группы генов – *APAF1, BAX, BCL2, BIM, DAPK1, MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, MIR339* у больных с НМРЛ; оценить изменение уровня метилирования с учетом клинико-патологических характеристик НМРЛ.

Материалы и методы. В исследование включены 70 пациентов возраст которых составлял от 30 до 80 лет, при наличии гистологически подтвержденного диагноза НМРЛ. Исключались пациенты, которым проводилось неоадъювантое лечение, либо больные с хроническими заболеваниями. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие. В исследование были отобраны парные образцы опухолевой и здоровой ткани, среди которых 31 образец с аденокарциномой (АДК) и 39 – с плоскоклеточным раком легкого (ПРЛ). Образцы опухолевой и нормальной ткани НМРЛ были получены в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава. Уровень метилирования генов анализировали методом количественной метил-специфичной ПЦР с детекцией в реальном времени (qMC-ПЦР) по методу, опубликованному в работе [1]. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе SPSS Statistics 22 с использованием непараметрических методов: U-критерия Манна-Уитни и корреляции Спирмена.

Результаты. Для исследуемых пяти БКГ (*APAF1, BAX, BCL2, BIM, DAPK1*) в опухолевой ткани пациентов с НМРЛ повышенный уровень метилирования был выявлен у четырех генов (*APAF1, BAX, BIM* и *DAPK1*), при этом для гена *BCL2* было отмечено деметилирование (Рисунок 1). Интересные результаты были получены при анализе изменения уровня метилирования в зависимости от клинико-морфологических параметров опухоли, таких как стадия (I-IV), дифференцировка (G_1-G_3), размер (T_1-T_4) и лимфогенное метастазирование (N_0-N_1). Так, на III-IV стадии статистически значимое увеличение метилирования выявлено для четырех генов – *APAF1, BAX, BIM* и *DAPK1*, также выявлен высокий уровень метилирования генов *APAF1, BIM, DAPK1* в опухолях большего размера (T_3/T_4). При анализе опухоли пациентов с лимфогенным метастазированием обнаружен высокий уровень метилирования генов *APAF1, BAX, DAPK1*. Кроме того, выявлено увеличение метилирования гена BAX в опухолях с низкой степенью дифференцировки (Рисунок 2). Полученные данные могут указывать на связь метилирования онко-супрессорных генов *DAPK1, BIM, BAX* и *APAF1* с патофизиологическими признаками прогрессии НМРЛ.

При анализе генов миРНК *MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, MIR339* в общей группе больных все исследуемые гены миРНК имели значимо более высокий уровень метилирования в опухолевой ткани ($p<0.05$), чем в ткани условной нормы (Рисунок 3). При анализе больных в группах с разными гистологическими подтипами – АДК и

ПРЛ, значимое увеличение уровня метилирования по сравнению с нормальной тканью было выявлено для семи генов миРНК: *MIR124-1, MIR124-3, MIR125B-1, MIR129-2, MIR137, MIR1258* и *MIR339* для обеих групп. Стоит подчеркнуть, что высокий уровень метилирования *MIR124-2* в опухолевой ткани был специфичен только для ПРЛ.

При анализе уровня метилирования генов миРНК в зависимости от клинико-морфологических параметров НМРЛ, было показано статистически значимое ($p<0.05$) увеличение уровня метилирования на III-IV стадии по сравнению с I-II стадией для семи генов миРНК (*MIR124-1, MIR125B-1, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR1258, MIR339*) в общей группе. При рассмотрении групп с АДК и ПРЛ, найдены как общие миРНК (*MIR124-1, MIR125B-1, MIR127*) так и частные, значимо высокий уровень метилирования которых на III-IV стадии, характерен только для ПРЛ (*MIR124-2, MIR129-2* и *MIR339*) или АДК (*MIR137* и *MIR1258*) (Рисунок 4А). Стоит отметить, что ряд исследований также отмечают отличия метилирования генов миРНК при разных стадиях заболевания [2, 3].

Высокий уровень метилирования для всех 10 генов миРНК выявлен в образцах НМРЛ с размером онкологического узла более 5 см. Стоит отметить, что для ПРЛ найдены специфичные маркеры большого размера опухоли (*MIR124-2, MIR129-2* и *MIR137*) (Рисунок 4Б).

При сопоставлении уровня метилирования исследованных генов миРНК в зависимости от степени дифференцировки клеток НМРЛ было показано статистически значимое увеличение уровня метилирования генов миРНК *MIR124-1, MIR125B-1, MIR137* и *MIR339* при снижении степени дифференцировки опухолевых клеток при НМРЛ. При сопоставлении высокодифференцированных (G_1) с низкодифференцированными (G_3) клетками в отдельных гистотипах НМРЛ было выявлено значимое увеличение уровня метилирования генов *MIR124-1* и *MIR125B-1* для G_3 при АДК и *MIR124-1* и *MIR339* при ПРЛ (Рисунок 4В) [4].

В результате анализа уровня метилирования в опухолевой ткани при НМРЛ в зависимости от лимфогенного метастазирования (N_0 против N_1/N_2) был выявлен статистически значимо высокий уровень метилирования у генов миРНК *MIR125B-1, MIR127, MIR1258, MIR339, MIR124-1, MIR129-2* и *MIR137*. В группах с гистологическими типами опухоли было выявлено, что уровень метилирования при ПРЛ выше для *MIR125B-1*, а при АДК – для *MIR124-1, MIR137* и *MIR1258* (Рисунок 4Г).

Стоит отметить, что в результате исследования уровня метилирования 10 генов миРНК в группах курящих и некурящих больных с НМРЛ был показан статистически значимо высокий уровень метилирования гена *MIR1258* в группе некурящих пациентов по сравнению с курящими. В группах с разными гистологическими типами у курящих пациентов было показано значимое снижение уровня метилирования генов *MIR124-2* и *MIR375* при ПРЛ в сравнении с некурящими. При этом при АДК значимых различий не выявлено. Интересно, что данный факт отмечен при

исследовании плоскоклеточного рака другой этиологии исследовательской группой из Тайваня [5].

Выводы. Полученные нами данные могут свидетельствовать о значимости изменения уровня метилирования для изученных нами БКГ и генов миРНК в патогенезе и прогрессии НМРЛ и его гистологических подтипов – ПРЛ и АДК. Ряд данных, в дальнейшим, может помочь в клинической практике осуществлять дифференциальную диагностику между гистологическими подтипами и выявлять как лимфогенные, так и отдаленные метастазы для формирования правильной тактики лечения.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FGFU-2023-0001.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы благодарят Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина за сбор и клинико-гистологическую характеристику образцов НМРЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Логинов В.И., Бурдённый А.М., Филиппова Е.А., Пронина И.В., Лукина С.С., Казубская Т.П., Карпухин А.В., Ходырев Д.С., Брага Э.А. Аберрантное метилирование 21 гена микроРНК при раке молочной железы: наборы генов, связанных с показателями прогрессии, и система маркеров для прогноза лимфогенного метастазирования // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2021. – Т. 172. – № 7. – С. 81-86. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-7-81-86
2. Рыков С. В., Ходырев Д. С., Пронина И. В., Казубская Т. П., Логинов В. И., Брага Э. А. Новые гены микроРНК, подверженные метилированию в опухолях легкого // *Генетика.* – 2013. – Т. 49. – N. 7. – С. 896–901. Doi: 10.7868/S0016675813070114
3. Min L, Wang F, Hu S, Chen Y, Yang J, Liang S, Xu X. Aberrant microRNA-137 promoter methylation is associated with lymph node metastasis and poor clinical outcomes in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2018; 15(5):7744-7750. doi: 10.3892/ol.2018.8273. PMID: 29740491
4. Губенко М. С., Логинов В. И., Бурденный А. М. [и др.]. Изменение уровня метилирования группы генов микроРНК как фактор развития и прогрессии немелкоклеточного рака лёгкого // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2022. – Т. 174. – № 8. – С. 222-227
5. Puttipanyalears C, Subbalekha K, Mutirangura A, Kitkumthorn N. Alu hypomethylation in smoke-exposed epithelia and oral squamous carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(9):5495-501. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.9.5495. PMID: 24175848

Рисунки

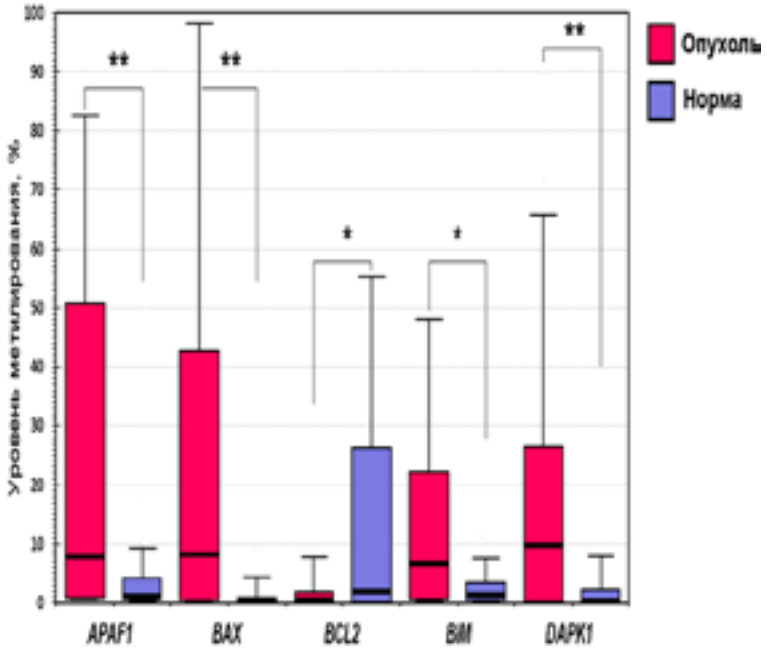


Рисунок 1. Профили метилирования генов *APAF1, BAX, BCL2, BIM, DAPK1* в образцах НМРЛ. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна–Уитни. *p<0.05; **p<0.01

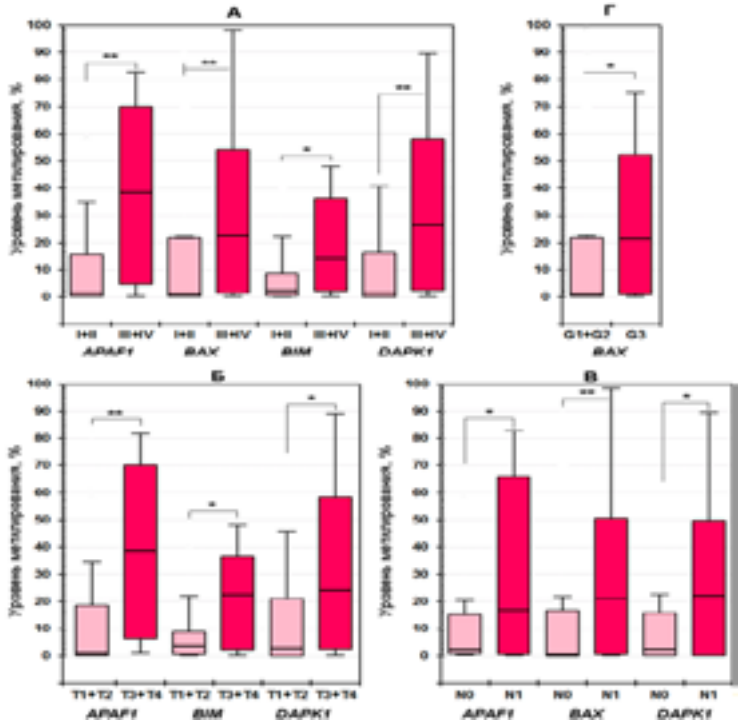


Рисунок 2. Связь уровня метилирования генов *APAF1, BAX, BIM* и *DAPK1* со стадией онкологического процесса (А); размером опухоли (Б); и лимфогенным метастазированием (В); степенью дифференцировки (Г) при НМРЛ. *p<0.05; **p<0.01

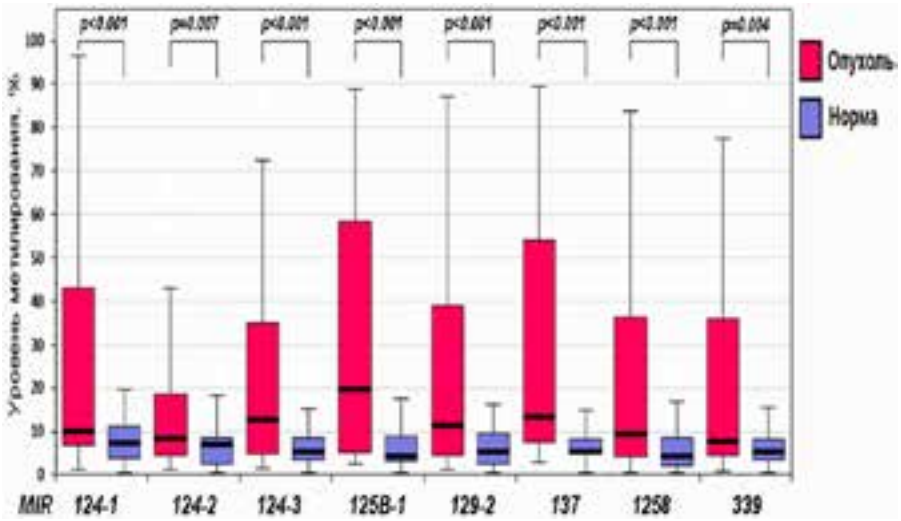


Рисунок 3. Сравнение уровня метилирования 10-ти генов миРНК в 70 парных образцах опухоли и гистологически неизмененной ткани легкого при НМРЛ.

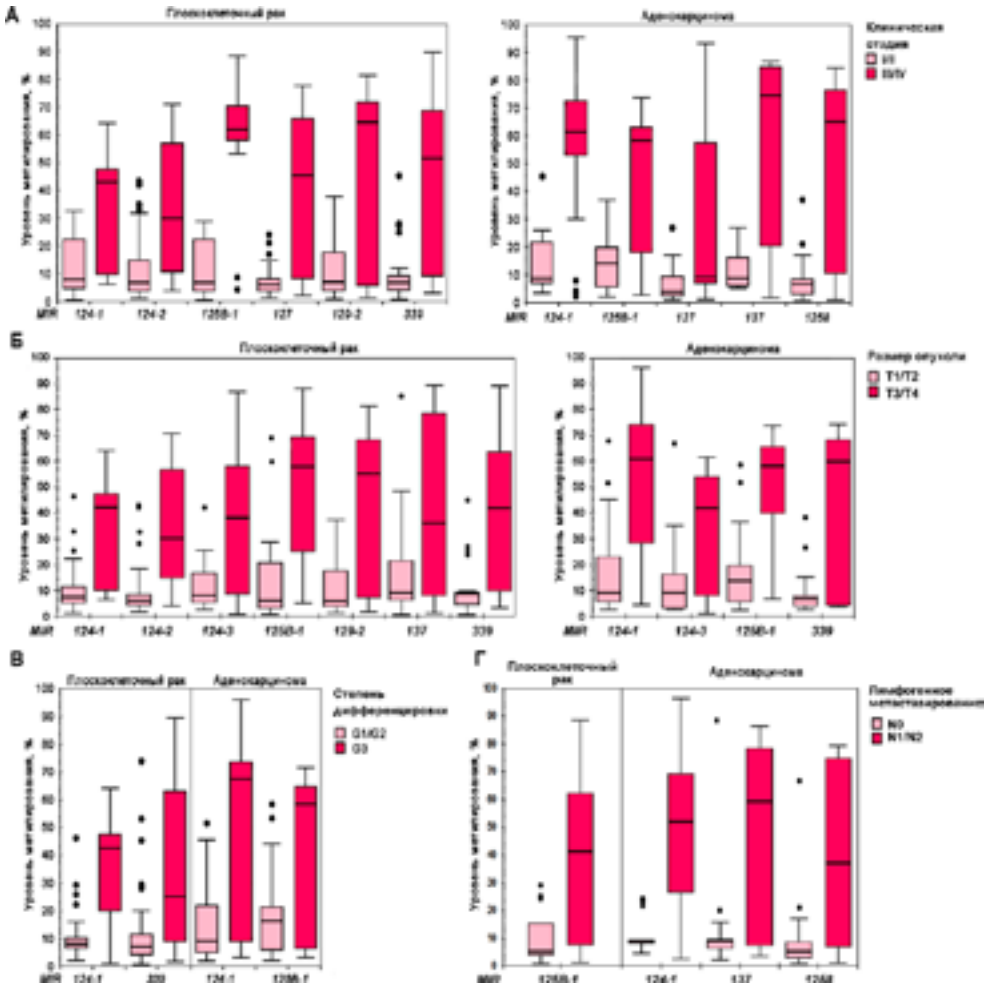


Рисунок 4. Связь уровня метилирования генов миРНК с клинико-морфологическими критериями онкологического процесса при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого: А) клинической стадией; Б) размером опухоли; В) степенью дифференцировки; Г) лимфогенным метастазированием. *Показаны статистически значимые изменения* ($p<0.05$)

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ КЛИНДАМИЦИНА ГИДРОХЛОРИД В СУБХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.О. Земцова*, В.В. Шевляков, Р.В. Богданов, В.М. Василькевич

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,

г. Минск, Республика Беларусь

**e-mail*: veto4ka1710@rambler.ru

Представленные в статье результаты исследований выполнены в рамках первого этапа задания 03.10 «Разработать метод гигиенического нормирования антибактериальных лекарственных средств в воздухе рабочей зоны» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг». Целью исследования являлось определение особенностей биологического действия фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид в субхроническом эксперименте как этапа ее гигиенического нормирования в воздухе рабочей зоны. В условиях 45-суточного внутрижелудочного введения лабораторным животным клиндамицина гидрохлорид в дозах 1/5 (461,12 мг/кг), 1/10 (230,56 мг/кг) от DL_{50} установлено его функциональное кумулятивное токсическое действие на организм, проявляющееся нарушениями у опытных белых крыс ряда изученных показателей кроветворной, мочевыделительной и гепатобилиарной систем, а также выраженными нейрофизиологическими изменениями. Доза клиндамицина гидрохлорид на уровне 115,28 мг/кг являлась не действующей по токсическому кумулятивному действию.

***Ключевые слова*:** антибактериальные лекарственные средства, фармацевтическая субстанция, клиндамицина гидрохлорид, кумулятивная активность.

Введение. В рамках развития фармацевтической промышленности увеличивается производство различных фармакологических групп лекарственных средств, в том числе антибактериальных препаратов. Производство антибактериальных препаратов может характеризоваться загрязнением воздуха рабочей зоны различными компонентами, входящими в состав лекарственных средств, и, как следствие, негативным действием на организм работающих при ингаляционном воздействии и попадании на кожные покровы.

Для производства антибактериальных лекарственных средств (АБЛС) используют активно действующие вещества – фармацевтические субстанции, полученные в результате микробиологического и/или химического синтеза. Фармацевтические субстанции АБЛС, представляющие собой активные химические вещества, в процессе производства могут попадать в воздух рабочей зоны и оказывать влияние на здоровье работающих. Причем при

ингаляционном и накожном воздействии на организм фармацевтические субстанции в зависимости от доз и длительности воздействия могут вызывать различные вредные общетоксические и/или специфические эффекты. Общетоксическое действие на организм может проявляться избирательными эффектами: нефротоксическими, гепатотоксическими, гемотоксическими; специфическое действие АБЛС на организм проявляется нарушениями микробиоты кишечника, иммунотоксическими и аллергическими реакциями.

Следовательно, основным направлением профилактики негативного действия на организм работающих фармацевтических субстанций АБЛС является их гигиеническое нормирование и контроль их содержания в воздухе рабочей зоны.

Объект и методы исследования. Для проведения экспериментальных токсиколого-гигиенических исследований была отобрана фармацевтическая субстанция клиндамицина гидрохлорид (рисунок 1), являющаяся активно действующим веществом лекарственного препарата клиндамицин.

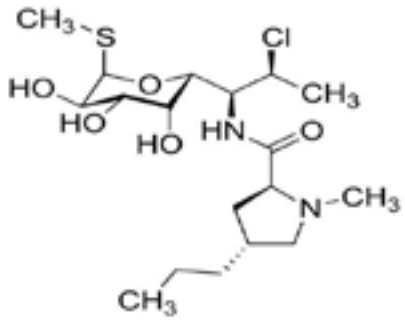


Рисунок 1. Структурная формула фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид

Клиндамицин – антибактериальный препарат, полусинтетический антибиотик группы линкозамидов, применяемый для лечения инфекций, вызванных в основном штаммами анаэробных бактерий.

Дозозависимое кумулятивное действие фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид (далее – КГ) изучали при внутрижелудочном введения ее водного раствора белым крысам в течение 45 суток. Для эксперимента были сформированы 4 группы экспериментальных животных по 12 особей в каждой: 1 – контрольная и 3 группы опытных животных, которые подвергались воздействию субстанции в дозах 1/5 (461,12 мг/кг), 1/10 (230,56 мг/кг) и 1/20 (115,28 мг/кг) от среднесмертельной дозы DL_{50}, установленной в острых экспериментах. Контрольные животные получали в эквивалентном количестве растворитель. В ходе эксперимента, наблюдали за потреблением корма и воды подопытными, отмечали

клинические признаки интоксикации, регистрировали изменения массы тела, гибель и сроки гибели.

Количественную оценку кумуляции проводили с использованием классического метода Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича [1]. Для оценки степени выраженности кумулятивного эффекта использовали классификацию Л. И. Медведя [2].

В начале эксперимента и по его окончании у подопытных крыс изучали ряд морфофункциональных показателей, показатели поведенческой и нейрофизиологической активности, а также величины суммационно-порогового показателя (далее – СПП), систолического и диастолического артериального давления, частоты сердечных сокращений (далее – ЧСС). На 46-е сутки эксперимента после мгновенной декапитации экспериментальных животных контрольной и опытных групп при вскрытии выполнена визуальная оценка состояния внутренних органов, определены их относительные коэффициенты масс (далее – ОКМ), проведены лабораторные исследования показателей мочи и периферической крови, определения рядя биохимических показателей сыворотки крови.

Условия обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта соответствовали этическим принципам надлежащей лабораторной практики [3], гуманистическим принципам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте (Хельсинки, 1986 г.), требованиям «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986) и международной концепции трех R (reduction, refinement, replacement) в отношении использования лабораторных животных в экспериментах [4].

Подготовительная обработка данных эксперимента проводилась с использованием программного продукта Microsoft Excel. Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами параметрической и непараметрической статистики [5] с использованием программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft, США).

Результаты кумулятивного действия клиндамицина гидрохлорид при субхроническом введении в желудок белым крысам.

За период 45-суточного эксперимента не зарегистрировано летальных исходов подопытных животных контрольной и опытных групп, а первичные результаты изученных физиологических показателей у белых крыс не имели статистически значимых различий. Кроме того, по окончании эксперимента не установлено у экспериментальных животных опытных групп нарушений показателей поведенческих реакций по сравнению с контрольными животными.

Однако у крыс первой опытной группы на монотонное 45-суточное воздействие исследуемого препарата в дозе 1/5 DL_{50} установлены нейрофизиологические изменения,

характеризующиеся снижением величины СПП на фоне возрастания частоты сердечных сокращений по отношению к таковым в контрольной группе ($p < 0,05$) (таблица 1).

Таблица 1. Нейрофизиологические показатели белых крыс после субхронического внутрижелудочного введения клиндамицина гидрохлорид

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изуче-ния, сутки	Группы сравнения			
		Контрольная группа n =12	1 опыт. группа: КГ 1/5 DL_{50} n = 12	2 опыт. группа: КГ 1/10 DL_{50} n = 12	3 опыт. группа: КГ 1/20 DL_{50} n = 12
Суммационно-пороговый показатель (СПП), вольт	фон	0,8 (0,73–0,88)	0,83 (0,74–0,86)	0,94 (0,75–1,03)	0,8 (0,73–0,88)
	45	0,8 (0,75–0,80)	0,55 (0,53–0,55)*	0,64 (0,55–0,71)*	0,69 (0,56–0,76)
Частота сердечных сокращений (ЧСС), уд. в мин.	фон	565,5 (557,5–581,5)	550,5 (527,9–570,5)	556,5 (524,0–574,7)	584,5 (563,5–604,5)
	45	533,5 (529,5–544)	583,5 (566,0–593,5)*	552,0 (535,0–574,5)	541,0 (535–566,6)
* достоверные различия с контролем при $p < 0,05$.					

У белых крыс второй опытной группы на воздействие КГ в дозе 1/10 DL_{50} также установлено снижение величины СПП на 20,0 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Установлено у животных 1 опытной группы увеличение по отношению к контролю ОКМ сердца на 73, 9 %, легких на 22,8 % и селезенки на 10,9 % ($p < 0,05$). У бенлых крыс второй опытной группы выявлено только зачимое увеличение ОКМ сердца ($p < 0,05$) (таблица 2). Кроме того, у белых крыс первой опытной группы выявлены статистически значимые по сравнению с контролем сдвиги со стороны показателей периферической крови: снижение на 5,1 % средней концентрации гемоглобина в эритроцитах при существенном возрастании распределения эритроцитов по объему крови, возрастание на 6,6 % среднего объема тромбоцитов без значимых изменений их количества в крови, увеличение на 28,8 % количества лейкоцитов, преимущественно за счет значительного возрастания удельного и абсолютного количества моноцитов и нейтрофилов на фоне снижения содержания лимфоцитов.

Таблица 2. Относительные коэффициенты массы внутренних органов, кг$^{-3}$/кг белых крыс после субхронического внутрижелудочного введения клиндамицина гидрохлорид

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изуче-ния, сутки	Группы сравнения			
		Контрольная группа n =12	1 опыт. группа: КГ 1/5 DL_{50} n = 12	2 опыт. группа: КГ 1/10 DL_{50} n = 12	3 опыт. группа: КГ 1/20 DL_{50} n = 12
Почки	46	0,68 (0,63–0,69)	0,73 (0,67–0,9)	0,7 (0,63–0,8)	0,69 (0,65–0,73)
Печень	46	2,9 (2,73–3,46)	3,24 (2,81–3,51)	3,2 (2,95–3,44)	3,13 (2,84 ,5)
Сердце	46	0,23 (0,29–0,34)	0,4 (0,32–0,42)*	0,36 (0,32–0,37)*	0,34 (0,3–0,4)
Селезенка	46	0,46 (0,28 – 0,5)	0,51 (0,47 – 0,59)*	0,47 (0,35 – 0,55)	0,44 (0,4 – 0,51)
Легкие	46	0,79 (0,68–0,88)	0,97 (0,82–1,1)*	0,8 (0,71–0,88)	0,71 (0,61–1,02)
* достоверные различия с контролем при $p < 0,05$.					

Установлены нарушения функции печени, проявляющиеся возрастанием в сыворотке крови опытных крыс 1 группы мочевины на 14,1 % при снижении содержания креатинина (на 5,38 %), общего белка (на 7,54 %) и глюкозы (на 16,7 %) по отношению к таковым в контрольной группе животных.

Аналогичные, но менее выраженные изменения изученных морфофункциональных показателей организма отмечены также у экспериментальных животных второй опытной группы на воздействие изучаемой фармацевтической субстанции. Так, у них установлено снижение средней концентрации гемоглобина в эритроцитах (на 2,91 %, $p < 0,05$) при значимом возрастании распределения эритроцитов по объему крови, возрастание на 6,62 % ($p < 0,05$) среднего объема тромбоцитов без значимых изменений их количества в крови и удельного веса содержания в крови моноцитов (на 19,5 %, $p < 0,05$), сохранение повышенного уровня содержания в сыворотке крови мочевины на 6,4 % ($p < 0,05$).

Нарушения функционального состояния моче-выделительной системы у опытных крыс первой и второй опытных групп характеризовалось существенным возрастанием pH мочи: на 22,7 % ($p < 0,05$) у животных первой и на 18,2 % ($p < 0,05$) второй опытной группы, содержания в моче билирубина у экспериментальных животных обеих групп, кроме того определены в моче лейкоциты ($p < 0,05$) (таблица 3).

В то же время, величины всех изученных морфофункциональных показателей у белых крыс третьей опытной группы, подвергавшиеся в течение 45 суток внутрижелудочному введению КГ в дозе 1/20 DL_{50}, не имели статистически значимых отличий от подопытных животных контрольной группы.

Таблица 3. Показатели функционального состояния почек белых крыс после субхронического внутрижелудочного введения клиндамицина гидрохлорид:

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изуче-ния, сутки	Группы сравнения			
		Контрольная группа n =12	1 опыт. группа: КГ 1/5 DL_{50} n = 12	2 опыт. группа: КГ 1/10 DL_{50} n = 12	3 опыт. группа: КГ 1/20 DL_{50} n = 12
pH мочи, ед.	46	5,5 (5,5–5,5)	6,75 (6,5–7,0)*	6,5 (6,25–6,5)*	5,5 (5,5–5,5)
Удельная масса мочи	46	1,015 (1,014–1,015)	1,012 (1,011–1,013)*	1,017 (1,013–1,02)	1,017 (1,014–1,019)
Белок в моче, г/л	46	0,0	0,0	0,0	0,0
Глюкоза, мг/л	46	0,0	0,0	0,0	0,0
Лейкоциты, в 1мкл	46	0,0	25,0 (0,0–25,0)*	0,0 (0,0–25,0)	0,0
Билирубин, мг/100мл	46	0,0	50,0 (5,0–50,0)*	27,5 (2,5–50,0)*	5,0 (5,0 – 5,0)
* достоверные различия с контролем при $p < 0,05$.					

Заключение. Отсутствие летальных исходов опытных животных в период субхронического эксперимента не позволили рассчитать коэффициент материальной кумуляции изученной фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид на уровне смертельных эффектов и оценить класс его кумулятивной активности.

На основании результатов экспериментальных токсикологических исследований фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид можно заключить, что при субхроническом 45-суточном внутрижелудочном воздействии на экспериментальных животных исследованная субстанция не обладает кумулятивным действием на уровне летальных эффектов, однако, в дозах соответственно 461,12 и 230,56 мг/кг обладают функциональным кумулятивным токсическим действием на организм, проявляющимся нарушениями у опытных белых крыс ряда изученных показателей кроветворной, мочевыделительной и гепатобилиарной систем, а также выраженными нейрофизиологическими изменениями.

Доза клиндамицина гидрохлорид на уровне 115,28 мг/кг являлась не действующей по токсическому кумулятивному действию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каган, Ю. С. Коэффициент кумуляции как количественный критерий / Ю. С. Каган, В. В. Станкевич // Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. – Уфа. – 1964. – С. 48–49.

2. Медведь, Л. И. Пестициды и проблемы здравоохранения / Л. И. Медведь, Ю. С. Каган, Е. И. Спыну // Журн. Всесоюзн. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева. – 1968. – Т. 13, № 3. – С. 263–271.

3. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 : утв. постановлением М-ва здравоохр. Респ. Беларусь 28.03.2008, № 56. – Введ. 01.05.2008. – Минск, 2008. – 35 с.

4. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resourcens commission on life sciences research council // National academy press. – Washington, D. C., 1996. – P. 1–128.

5. Гублер, Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин. – Л : Медицина, 1973. – 141 с.

ДИЗРЕГУЛЯЦИЯ АУТОФАГИИ И АПОПТОЗА В ПОЧКЕ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ: МАРКЕРЫ И ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ

А.И. Корбут

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Введение: Сахарный диабет (СД) занимает лидирующее место в структуре причин развития хронической болезни почек (ХБП) и терминальной почечной недостаточности [1]. В настоящее время в России и мире наблюдается увеличение заболеваемости СД и встречаемости ХБП у больных СД 2 типа [2–4]. Развитие ХБП при СД ассоциировано с нарушением процессов пролиферации, апоптоза и аутофагии в почке [5, 6]. В настоящее время наблюдается увеличение частоты неальбуминурической ХБП (НА-ХБП) у больных СД [7, 8]. Ингибитор натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа (НГЛТ-2) эмпаглифлозин и ингибитор дипептидилпептидазы 4 типа (ДПП-4) линаглиптин являются новыми сахароснижающими препаратами с доказанным нефропротективным эффектом [9, 10]. Механизмы, лежащие в основе реализации нефропротективных эффектов данных препаратов, недостаточно изучены.

Цель работы: дать характеристику изменений регуляции почечной аутофагии и апоптоза у больных сахарным диабетом 2 типа с различными вариантами течения хронической болезни почек и в модели заболевания у мышей *db/db,* определить возможности коррекции нарушений аутофагии и апоптоза в эксперименте.

Материалы и методы: Работа представляет собой клинико-экспериментальное исследование. Клиническая часть исследования проведена как наблюдательное, одноцентровое, одномоментное (поперечное) исследование. В исследование включались больные СД 2 типа старше 18 лет с длительностью заболевания не менее 10 лет с момента постановки диагноза. Критерии исключения: ХБП недиабетического генеза; заместительная почечная терапия; инфекция мочевых путей, высокобелковая диета на момент на момент включения в исследование; онкологические или системные аутоиммунные заболевания в анамнезе; кетоацидоз, гиперосмолярное состояние в течение 3 месяцев до включения в исследование. Обследование больных проводилось в условиях эндокринологического отделения клиники НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН согласно Алгоритмам специализированной медицинской помощи больным СД (2017, 2019). Результаты исследований вносились в Регистр больных сахарным диабетом эндокринологического отделения научно-исследовательской клиники НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН (РБСД) [11].

Для определения мочевой экскреции в группах больных СД сформированы подгруппы из 35 человек, сопоставимые по возрасту, полу и характеристикам сахароснижающей терапии. Лица с СКФ ≥60 мл/мин×1,73 м^2 и отношением альбумин/креатинин мочи (АКМ) <3,0 мг/ммоль составили группу СД без признаков ХБП (СД без ХБП). Участники исследования с СКФ <60 мл/мин×1,73 м^2 и АКМ <3,0 мг/ммоль вошли в группу НА-ХБП. Больные СД 2 типа с СКФ ≥60 мл/мин×1,73 м^2 и АКМ ≥3,0 мг/ммоль были отнесены в группу изолированной альбуминурии (А-ХБП–). Пациенты с СКФ <60 мл/мин×1,73 м^2 и АКМ ≥3,0 мг/ммоль сформировали группу альбуминурической ХБП (А-ХБП+). Контрольную группу составили 20 человек без ожирения и нарушений углеводного обмена. Концентрация в моче фермента PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10), беклина-1 (BECN1), сиртуина-1 (SIRT1), белка Клото, фактора роста фибробластов 21 (FGF21) и фактора роста соединительной ткани (CTGF) исследована методом ИФА и нормирована на концентрацию креатинина мочи.

В экспериментальную часть исследования было включено 40 мышей-самцов *db/db* (BKS.Cg-Dock7m$^{+/+}$Lepr^{db}/J) с генетически детерминированным СД 2 типа и ожирением. Самцы-гетерозиготы *db/+* без СД и ожирения использовались в качестве контроля (N=10). Содержание животных осуществлялось в условиях SPF-вивария ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН. В опытные группы вошли мыши, получавшие эмпаглифлозин в дозе 10 мг/кг массы животного либо линаглиптин в дозе 10 мг/кг массы животного внутрижелудочно в течение 56 дней с 7-8 по 15-16 недели жизни. В группе плацебо мыши получали по 200 мкл физиологического раствора в сутки. Контролем были самцы-гетерозиготы *db/+* без СД. По достижении животными возраста 16 недель забирали кровь, определяли массу тела, а также был осуществлен забор почечной ткани для последующих исследований.

Оценка почечных клубочков и канальцев нефрона проводилась с помощью оптической микроскопии (окраска гематоксилином и эозином, иммуногистохимическая (ИГХ) окраска на TGF-β). Объемная плотность органелл, ассоциированных с аутофагией, в подоцитах определялась с помощью электронной микроскопии, согласно рекомендациям Руководства по использованию и интерпретации методов мониторинга аутофагии (4-е издание) [12]. Содержание медиаторов аутофагии BECN1 и LAMP-1 в почечных клубочках и канальцевых эпителиоцитах определялось иммуногистохимически. Морфометрия микрофотографий проведена с помощью программы *ImageJ* (США).

Из образцов коркового и мозгового вещества почки был экстрагирован белок с последующим проведением белкового иммуноблота с использование антител к LC3B, BECN1, Bcl-2 и каспазе-3 (*Abcam,* Великобритания). Содержание фосфорилированных форм регуляторов клеточного цикла, апоптоза и аутофагии (BAD, GSK-3, IRS-1, mTOR, PTEN, рибосомальный

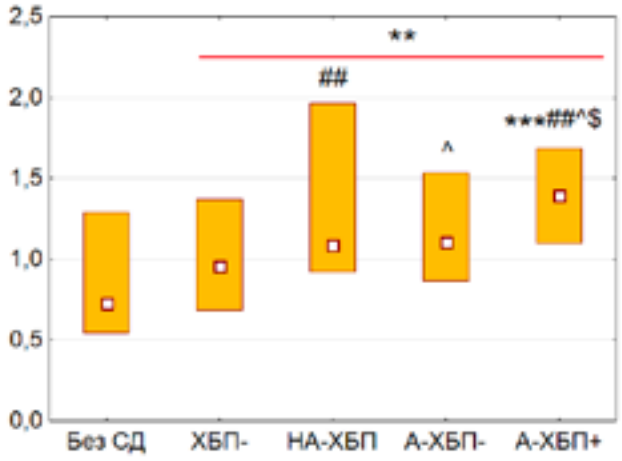
белок S6, ERK1/2, HSP27, MEK1, p53 и рибосомальная S6 киназа RSK) в корковом и мозговом веществе почки оценены посредством мультиплексного анализа (BioRad, США).

Проведение клинической части исследования одобрено локальным этическим комитетом НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН (протоколы №88 от 22.11.2012 г., №166 от 24.06.2021 г.). Экспериментальная часть исследования одобрена локальным этическим комитетом НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол №21 от 01.04.2014 г.) и биоэтической комиссией ИЦиГ СО РАН (протоколы №246 от 08.04.2014 г., №72 от 05.04.2021 г.).

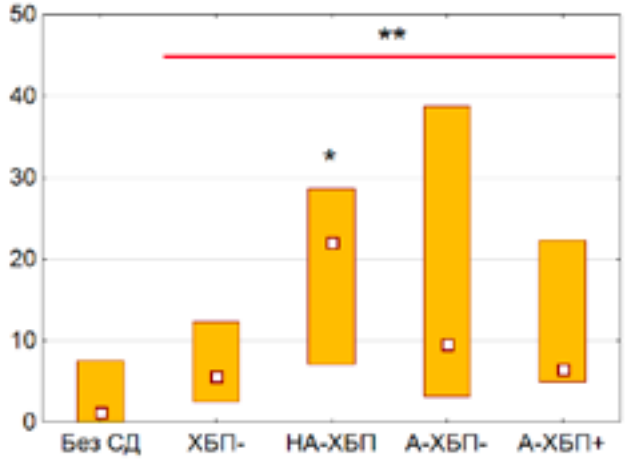
Результаты: *Мочевая экскреция молекул-регуляторов клеточного цикла, апоптоза и аутофагии у больных СД 2 типа.* У больных СД в сравнении с контролем наблюдалось увеличение мочевой экскреции PTEN, BECN1, SIRT1, FGF21 и CTGF (все $p<0,05$, Рисунок 1) и снижение мочевой экскреции белка Клото ($p=0,045$). Пациенты с рСКФ <60 мл/мин×1,73 м^2 в сравнении с больными с рСКФ ≥60 мл/мин×1,73 м^2 характеризовались более высокими значениями мочевой экскреции PTEN, FGF21 и CTGF (все $p<0,05$). У пациентов с АКМ ≥3,0 мг/ммоль в сравнении с больными с АКМ <3,0 мг/ммоль наблюдались более высокие значения мочевой экскреции PTEN ($p=0,03$) и более низкие значения мочевой экскреции белка Клото ($p=0,047$). Увеличение мочевой экскреции BECN1 было статистически значимым в группе больных с НА-ХБП ($p=0,01$ в сравнении с контролем), увеличение мочевой экскреции PTEN и CTGF – в группе больных с альбуминурической ХБП ($p=0,001$ в сравнении с контролем и $p=0,007$ в сравнении с больными СД без ХБП для PTEN; $p=0,04$ в сравнении с контролем для CTGF).

Мочевая экскреция PTEN и FGF21 слабо отрицательно коррелировала с рСКФ ($r=–0,28$, $p<0,001$ и $r=–0,22$, $p=0,008$, соответственно), мочевая экскреция Клото – с АКМ ($r=–0,20$, $p=0,02$). В многофакторной логистической регрессионной модели, учитывающей возраст, пол, индекс массы тела, длительность СД и величину гликированного гемоглобина, экскреция Клото была ассоциирована с АКМ ≥3,0 мг/ммоль (ОШ=0,96, 95% ДИ 0,93 – 0,9996, $p=0,048$), экскреция PTEN была независимым фактором, ассоциированным с альбуминурической ХБП (ОШ=6,23, 95% ДИ 1,43 – 27,1, $p=0,01$).

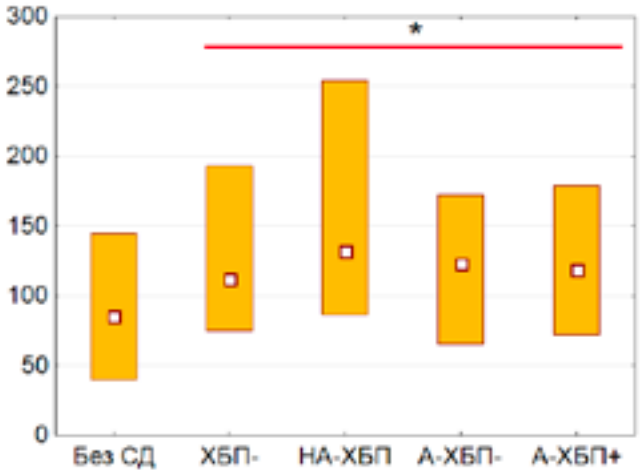
Гломерулярная аутофагия и маркеры апоптоза в корковом веществе почки в модели СД 2 типа. Мыши *db/db* в сравнении с контролем *db/+* имели значительную гипергликемию, резко выраженную гиперлептинемию, гиперинсулинемию, больший вес и большую долю жировой ткани ($p<0,001$ для всех показателей), а также имели большие значения абсолютной ($p=0,001$) массы почек и больший уровень экскреции альбумина с мочой ($p=0,01$).



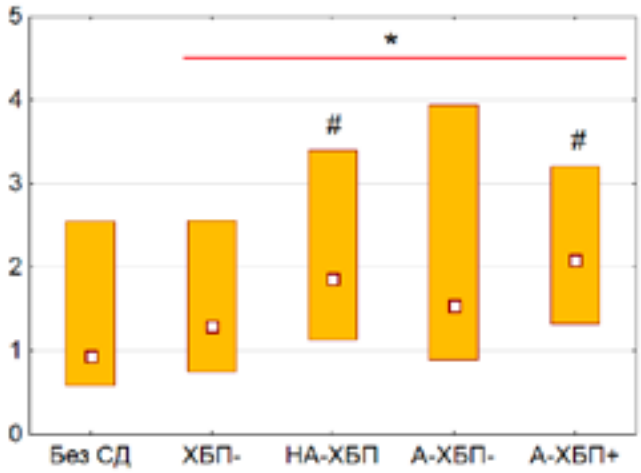
PTEN (нг/ммоль)



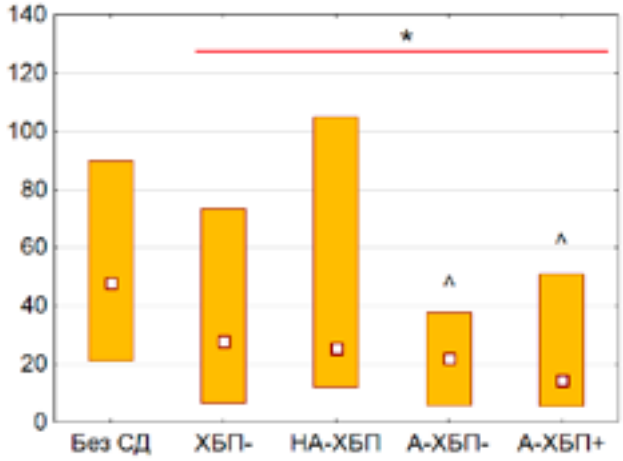
BECN1 (нг/ммоль)



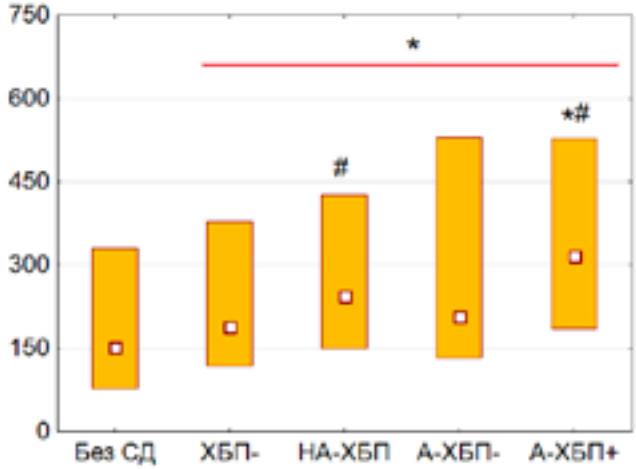
SIRT1 (нг/ммоль)



FGF21 (нг/ммоль)



Белок Клото (пг/ммоль)



CTGF (нг/ммоль)

Рисунок 1. Мочевая экскреция регуляторов клеточного цикла, аутофагии и апоптоза у больных СД 2 типа и различными вариантами ХБП

* p<0.05, ** p<0.01 в сравнении с лицами без СД; # p<0.05, ## p<0.01 в сравнении с больными СД и рСКФ ≥60 мл/мин×1.73 м^2; ^ p<0.05, ^^ p<0.01 в сравнении с больными СД и величиной АКМ <3.0 мш/ммоль; $ p<0.05 в сравнении с группой больных СД без ХБП (ХБП–).

На фоне введения эмпаглифлозина величина глюкозы крови соответствовала началу эксперимента (p=0,10). В группе плацебо и линаглиптина наблюдалось прогрессирование гипергликемии (p<0,001).

Мыши *db/db* из группы плацебо в сравнении с контролем *db/+* имели большую долю мезангия в клубочках (p=0,001) и большую долю TGFβ-положительных полей в клубочках (p<0,001), что характеризует развитие гломерулосклероза и фиброза клубочков. Объемная плотность аутофагослом и аутолизосом в подоцитах и доля участков клубочка, содержащих BECN1, у мышей *db/db* была ниже, чем у мышей *db/+* (p=0,03, p=0,03, p=0,002, соответственно). Объемная плотность лизосом в подоцитах у мышей обеих групп были одинаковы, в то время как у мышей группы *db/db* наблюдалось снижение доли LAMP-1 положительных полей в клубочках (p=0,003). На фоне введения эмпаглифлозина, линаглиптина и комбинации лекарственных препаратов наблюдалось уменьшение относительного объема мезангиума (p<0,001 и p=0,02 для группы эмпаглифлозина; p=0,002 и p=0,04 для группы линаглиптина и p=0,03 и p=0,04 для комбинации, соответственно), уменьшение средней толщины малых отростков подоцитов (p=0,005, p=0,02 и p=0,004, соответственно).

По результатам белкового иммуноблота выявлено, что величина экспрессии белка LC3B – маркера аутофагосом – значительно увеличена в корковом веществе почек мышей *db/db* группы плацебо в сравнении *db/+* с контролем без СД (p=0,008, Рисунок 2). У мышей *db/db*, получавших эмпаглифлозин и комбинацию эмпаглифлозина и линаглиптина, наблюдалось снижение содержания LC3B в корковом веществе почек (p=0,008 по сравнению с группой плацебо). Экспрессия белка LAMP-1 – маркера лизосом – была значимо снижена у мышей *db/db* группы плацебо в сравнении с контролем *db/+* без СД (p=0,008). В группе эмпаглифлозина наблюдалось «восстановление» экспрессии LAMP-1 в корковом веществе почки (p=0,03 в сравнении с мышами *db/db* группы плацебо).

Величина экспрессии каспазы-3 – маркера апоптоза – была заметно повышена у мышей *db/db* группы плацебо (p=0,008, Рисунок 2). Достоверное снижение уровня экспрессии каспазы-3 выявлено на фоне введения комбинации эмпаглифлозина и линаглиптина (p=0,008 в сравнении с группой плацебо). Экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 была ниже в ткани почки мышей *db/db* группы плацебо в сравнении с контролем *db/+* (p=0,008). Мыши *db/db*, получавшие эмпаглифлозин и комбинацию эмпаглифлозина и линаглиптина, продемонстрировали увеличение экспрессии Bcl-2 в сравнении с животными, получавшими плацебо (p=0,02 и p=0,046 соответственно).

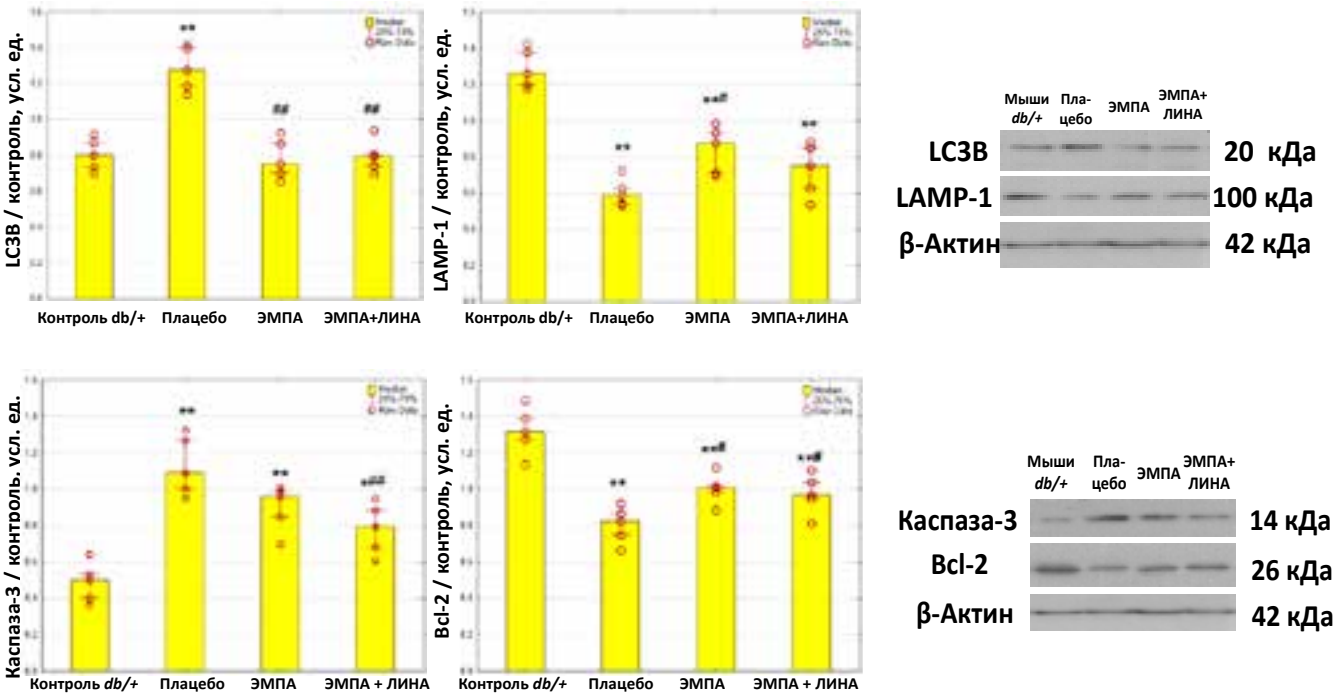


Рисунок 2. Экспрессия белка LC3B, LAMP-1, каспазы-3 и Bcl-2 в корковом веществе почек у мышей *db/+* без СД и мышей *db/db*, получавших плацебо, эмпаглифлозин (ЭМПА) и комбинацию эмпаглифлозина и линаглиптина (ЭМПА+ЛИНА). Данные представлены в виде гистограммы (медиана, нижний и верхний квартили) с индивидуальным набором данных (точки); ** p<0,01 по сравнению с контролем *db/+* без СД, # p<0,05, ## p<0,01 в сравнении с мышами *db/db*, получавшими плацебо (критерий Манна-Уитни).

По результатам ИГХ у мышей *db/db*, получавших плацебо, наблюдалось уменьшение доли BECN1-позитивных участков в почечных клубочках (p<0,001 в сравнении с мышами *db/+* из группы плацебо). Это снижение было частично компенсировано на фоне введения эмпаглифлозина, линаглиптина и комбинации данных препаратов (p=0.0003, p=0,001 и p=0,001, соответственно, в сравнении с группой плацебо). Площадь LAMP-1 положительных участков почечных клубочков была снижена у мышей *db/db* группы плацебо в сравнении с контролем *db/+* без СД (p=0,01). Введение эмпаглифлозина, линаглиптина и обоих препаратов нивелировало это снижение (p=0,002, p=0,04 и p=0,01 в сравнении с группой плацебо).

По результатам оценки объемной плотности (V_V) аутофагосом, аутолизосом и лизосом по электронограммам подоцитов выявлено, что у мышей *db/db* из группы плацебо наблюдались меньшие значения Vv аутофагосом в подоцитах (p<0,001). Введение эмпаглифлозина, линаглиптина или обоих агентов значимо увеличивало V_V аутофагосом (все p<0,001). В подоцитах мышей *db/db* группы плацебо наблюдалось снижение количества аутолизосом и лизосом (p<0,001). Показатель V_V аутолизосом восстанавливался у мышей *db/db*, получавших эмпаглифлозин, линаглиптин и их комбинацию (все p<0,001). Аналогичные изменения

наблюдались для показателя V_V лизосом в подоцитах (p=0,002, p=0,04 и p<0,001, соответственно).

Отношение массы почки к безжировой массе тела (БЖМТ) отрицательно коррелировало с V_V аутолизосом и лизосом в подоцитах (r=–0,43, p=0,007 и r=–0,45, p=0,007, соответственно). Относительный объем мезангиума отрицательно коррелировал со всеми оцененными параметрами аутофагии (r≤–0,32, p<0,05). Аналогичная картина взаимосвязей была обнаружена для толщины ГБМ (r≤–0,40, p<0,05). Величина экспрессии каспазы-3, LAMP-1 и Bcl-2 в корковом веществе почки была ассоциирована с отношением масса почек к БЖМТ (r=0,64, p=0,002, r=–0,60, p=0,005 и r=–0,64, p=0,002, соответственно). Относительный объем мезангиума и толщина ГБМ положительно коррелировали с экспрессией LC3B и каспазы-3 (r≥0,45, p<0,05). Напротив, величина экспрессии LAMP-1 и Bcl-2 в корковом веществе почки отрицательно корреллировали с относительным объемом мезангиума и толщиной ГБМ (r≤–0,45, p<0,05). Кроме того, содержание LC3B и каспазы-3 в корковом веществе почки имели корреляционные взаимосвязи с изменениями малых отростков подоцитов.

Экспрессия маркеров аутофагии в мозговом веществе почки в модели СД 2 типа. Мыши *db/db* характеризовались меньшей объемной долей дистальных канальцев нефрона и увеличением высоты эпителия собирательных трубочек, снижением экспрессии LC3B и Bcl-2, увеличением экспрессии BECN1 и каспазы-3 (p<0,05 в сравнении с контролем *db/+*). У мышей *db/db,* получавших эмпаглифлозин и линаглиптин, в сравнении с животными группы плацебо наблюдались меньшие значения массы почек, увеличение высоты эпителия собирательных трубочек, увеличение содержания LC3B и Bcl-2 и снижение содержания каспазы-3 в мозговом веществе почки (p<0,05 в сравнении с *db/db* группы плацебо).

Мыши *db/db*, получавшие эмпаглифлозин, характеризовались более высокими значениями экспрессии BECN1 в сравнении с *db/db* группы плацебо (p<0,05). У мышей *db/db* группы линаглиптина наблюдалось дополнительное увеличение экспрессии LC3B в мозговом веществе почки (p=0,04 в сравнении с *db/+*). Высота клеток эпителия дистальных канальцев нефрона отрицательно коррелировала с величиной экспрессии BECN1 и каспазы-3 в мозговом веществе почки (r=–0,31, p=0,04 и r=–0,46, p=0,03, соответственно). Высота клеток эпителия собирательных трубочек положительно коррелировала с величиной экспрессии LC3B (r=–0,44, p=0,03) и Bcl-2 (r=–0,55, p=0,02). Наблюдались отрицательные корреляции между высотой клеток эпителия собирательных трубочек и величиной экспрессии BECN1 и каспазы-3 в мозговом веществе почки (r=–0,44, p=0,03 и r=–0,49, p=0,03, соответственно).

Изменения сигнальный путей, регулирующих клеточный цикл, апоптоз и аутофагию в модели СД 2 типа. В корковом веществе почки мышей *db/db* в сравнении с контролем *db/+* наблюдались большие значения содержания фосфорилированных форм проапоптотического

протеина BAD (p<0,001), антипролиферативного фактора PTEN (p=0,03), регуляторов клеточного цикла ErK1/2 и MEK1 (оба p=0,03) и регулятора клеточной дифференцировки HSP27 (p=0,02).

В мозговом веществе почки мышей *db/db* в сравнении с контролем *db/+* выявлено увеличение содержания фосфорилированных форм PTEN (p=0,04), регулятора клеточной пролиферации и размера клетки рибосомального белка S6 (p<0,001) и регуляторов клеточного цикла и клеточной дифференцировки HSP27 и MEK1 (оба p=0,03).

У мышей *db/db,* получавших эмпаглифлозин, в мозговом веществе почки определялось более низкое содержание фосфорилированных PTEN (p=0,008), рибосомального белка S6 (p=0,03) и рибосомальной S6 киназы RSK (p=0,04), в сравнении группой плацебо. В мозговом веществе почки мышей *db/db,* получавших линаглиптин, в сравнении с плацебо были выявлены более низкие уровни фосфорилированной рибосомальной S6 киназы RSK (p=0,03).

У мышей *db/db* масса тела положительно коррелировала с содержанием фосфорилированного BAD в корковом и мозговом веществе (r=0,49, p=0,009 и r=0,56, p=0,002, соответственно), масса почек – с содержанием фосфорилированных BAD и HSP27 в мозговом веществе (r=0,39, p=0,03 и r=0,40, p=0,04, соответственно). Высота эпителии проксимальных канальцев нефрона отрицательно коррелировала с содержанием фосфорилированных PTEN (r=–0,61, p=0,003), HSP27 (r=–0,63, p=0,003) и рибосомальной S6 киназы RSK (r=–0,64, p=0,002) в корковом веществе. Объемная доля клеток собирательных трубочек положительно коррелировала с содержанием фосфорилированного BAD в мозговом веществе (r=0,67, p=0,003). Объемная доля интерстиция в корковом веществе отрицательное коррелировала с содержанием фосфорилироанного MEK1 (r=–0,49, p=0,03).

Выводы: Выявление альбуминурического и нормоальбуминурического вариантов ХБП у больных СД 2 типа и течение диабетической нефропатии в модели СД 2 типа у мышей *db/db* ассоциировано с дизрегуляцией аутофагии и апоптоза в почке. На фоне применения ингибитора НГЛТ-2 эмпаглифлозина и ингибитора ДПП-4 линаглиптина наблюдается реактивация аутофагии и супрессия апоптоза ткани почки. Данные изменения ассоциированы с уменьшением экспансии мезангиума, гломерулосклероза, подоцитопатии и дистрофии эпителиоцитов канальцев нефрона и собирательных трубочек. Полученные данные могут указывать на особенности патогенеза различных вариантов ХБП при СД 2 типа и давать обоснование механизмам реализации нефропротективного эффекта ингибиторов НГЛТ-2 и ДПП-4.

Финансирование: Государственное задание по фундаментальным и поисковым научным исследованиям НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН. Экспериментальные исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный

идентификатор проекта RFMEFI62119X0023). Световая и электронная микроскопия проведены в условиях Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (http://www.bionet.nsc.ru/microscopy/).

Благодарности: Автор работы выражает глубочайшую признательность научному руководителю НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, зав. лабораторией клинической иммуногенетики д.м.н., проф., акад. РАН Коненкову В.И., зам. руководителя НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН по научной работе, зав. лабораторией эндокринологии д.м.н., проф. РАН Климонтову В.В., зав. лабораторией ультраструктурных исследований НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН д.б.н., проф. Бгатовой Н.П., с.н.с. лаборатории ультраструктурных исследований НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН Таскаевой Ю.С., н.с. лаборатории эндокринологии к.м.н. Романову В.В., с.н.с. лаборатории клинической иммуногенетики к.м.н. Орлову Н.Б., руководителю Центра коллективного пользования «SPF-виварий» ФИЦ ИЦиГ СО РАН к.б.н. Завьялову Е.Л., с.н.с. лаборатории молекулярных механизмов старения ФИЦ ИЦиГ СО РАН к.м.н. Муралёвой Н.А. за неоценимый вклад в планирование, организацию и проведение экспериментальных, лабораторных и морфологических исследований.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, хроническая болезнь почек, аутофагия, апоптоз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ying M., Shao X., Qin H., Yin P., Lin Y., Wu J., Ren J., Zheng Y. Disease burden and epidemiological trends of chronic kidney disease at the global, regional, national levels from 1990 to 2019 // Nephron. – 2023.

2. Magliano D.J., Boyko E.J., IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee IDF Diabetes Atlas: IDF Diabetes Atlas. – 10th. – Brussels: International Diabetes Federation, 2021.

3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Сазонова Д.В., Мокрышева Н.Г. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 104-123.

4. Шамхалова М.Ш., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Шестакова М.В., Дедов И.И., Мокрышева Н.Г. Эпидемиология хронической болезни почек у пациентов с диабетом в Российской Федерации по данным Федерального регистра сахарного диабета (2010–2022 гг.) // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № 5. – С. 404-417.

5. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Внутриклеточные сигнальные пути при диабетической нефропатии: новые мишени для нефропротекции // Клиническая нефрология. – 2010. – № 5. – С. 57-63.

6. Sanz A.B., Sanchez-Niño M.D., Ramos A.M., Ortiz A. Regulated cell death pathways in kidney disease // Nature Reviews. Nephrology. – 2023. – V. 19, N. 5. — P. 281-299.

7. Климонтов В.В., Корбут А.И. Нормоальбуминурическая хроническая болезнь почек при сахарном диабете // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90, № 10. – С. 94-98.

8. Scilletta S., Di Marco M., Miano N., Filippello A., Di Mauro S., Scamporrino A., Musmeci M., Coppolino G., Di Giacomo Barbagallo F., Bosco G., Scicali R., Piro S., Purrello F., Di Pino A. Update on diabetic kidney disease (DKD): focus on non-albuminuric DKD and cardiovascular risk // Biomolecules. – 2023. – V. 13, N. 5. – P. 752.

9. Wanner C., Inzucchi S.E., Lachin J.M., Fitchett D., von Eynatten M., Mattheus M., Johansen O.E., Woerle H.J., Broedl U.C., Zinman B., EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes // The New England Journal of Medicine. – 2016. – V. 375, N. 4. – P. 323-334.

10. Rosenstock J., Perkovic V., Johansen O.E., Cooper M.E., Kahn S.E., Marx N., Alexander J.H., Pencina M., Toto R.D., Wanner C., Zinman B., Woerle H.J., Baanstra D., Pfarr E., Schnaidt S., Meinicke T., George J.T., von Eynatten M., McGuire D.K., CARMELINA Investigators. Effect of linagliptin vs placebo on major cardiovascular events in adults with type 2 diabetes and high cardiovascular and renal risk: the CARMELINA randomized clinical trial // JAMA. – 2019. – Т. 321, № 1. – С. 69-79.

11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019621746, Российская Федерация. Регистр больных сахарным диабетом эндокринологического отделения научно-исследовательской клиники (РБСД): № 2019621673: заявл. 01.10.2019 / В.В. Климонтов, О.Н. Фазуллина.

12. Klionsky D.J., Abdel-Aziz A.K., Abdelfatah S., Abdellatif M., Abdoli A., Tong C.-K., et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition) // Autophagy. – 2021. – Т. 17, № 1. – С. 1-382.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛОВОГО ДИМОРФИЗМА ПРИ СОЗРЕВАНИИ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ НА ЭТАПЕ ПРОРЕЗЫВАНИЯ ПРИ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

А.С. Коршунов, к.м.н., доцент кафедры стоматологии ДПО

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Прорезывание нижних третьих моляров представляет сложное биологическое событие, включающее динамические изменения органов и тканей рта на тканевом и клеточном уровнях [1]. Оно осуществляется анатомическими структурами, биологическими, молекулярными и биохимическими перестройками во всех элементах зубочелюстного аппарата, окружающих перемещающийся к окклюзионной плоскости зуб [2]. Бурное развитие молодого поколения, характеризующиеся быстрым ростом в биологическом и половом аспектах, привело к опережению созревания зубов, десен, мышечного каркаса, в тоже время челюстные кости, височно-нижнечелюстной сустав отстают в этом процессе [3]. Описанные изменения относятся к морфологическим, функциональным расстройствам и глубоким биохимическим изменениям всех структурных элементов, которые участвуют в прорезывании нижних третьих моляров [4]. Часто наблюдается недостаточная упаковка минерального компонента, увеличение доли органического матрикса, что соответствует картине незавершенного или нарушенного амелогенеза или дентиногенеза с наличием локальных гипоминерализованных участков, в некоторых наблюдениях встречается картина тяжелого гипопластического фенотипа, с появлением множественных гипоминерализованных участков [4,5]. Механическая плотность, твердость, модуль упругости, содержание кальция и фосфора уменьшаются со стороны эмали к дентину из-за большого содержания апатита в эмали, а органические вещества - наоборот, из-за их большого количества и значительной неоднородности со стороны дентинных канальцев. По мере стабилизации и реорганизации эмали, эмалево-дентинного соединения при прорезывании зубов, уменьшается содержание магния и натрия, что приводит к уплотнению кристаллической решетки гидроксиапатита [6]. Дисбаланс в биохимических процессах негативно отражается на сроках прорезывания временных и постоянных зубов человека [7,8].

У пятой части практически здоровых молодых людей констатируются аномалии положения третьих нижних коренных зубов, прорезывание которых сопровождается развитием инфекционно-воспалительных осложнений [9,10]. Распространенность патологических изменений или заболеваний нижних зубов «мудрости» в популяции варьируется в различных исследованиях от 16,7% до 68,6% [11,12]. К таким фоновым состояниям относится дисплазия

соединительной ткани, которая отличается распространенностью среди молодых людей и характеризуется различной степенью выраженности [13]. У людей с нарушением коллагенообразования изменены характер развития, созревания зубов, механизмы заживления после травматического повреждения костей лицевого скелета, изменяются одонтологические, морфометрические показатели коронковой части зубов, наблюдаются отклонения в количестве корней, их патологическая извитость [14]. При дисплазии соединительной ткани преобладает низкая скорость и степень минерализации зубов за счет изменений в коллагеновых структурах дентина, которые являются субстратом, осуществляющие основные свойства нуклеации и структурирования минерального компонента [15].

Для гармоничного и бесперебойного прорезывания зубов «мудрости» необходимо, чтобы созревание и развитие зубов совпадало с «костным» возрастом, что в стоматологической практике встречается редко [16]. Существует точка зрения, что биологический, скелетный, морфологический и стоматологический возраста носят индивидуальный характер и отличаются по половому признаку [17]. По мнению Гайворонского И.В. и Иорданишвили А.К. ретенция третьих моляров встречаются чаще у мужчин [10,18]. По данным Васильченко А.Г. частота затрудненного прорезывания нижних зубов «мудрости» у мужчин составляет 59%, у женщин 41%. Зарубежные ученые считают, что у женщин более высокая их распространенность [16]. Гайворонский И.В. в своих исследованиях указывает, что морфометрические характеристики лицевого черепа отличаются по половому признаку [18]. По убеждениям многих ученых, пол является важным фактором, который влияет на развитие и гармоничное прорезывание зубов, однако ряд исследователей отрицают наличие полового диморфизма по многих антропометрическим показателям [12,19]. Поэтому оправдано изучать прорезывание зубов у людей различного пола при наличие фоновых состояний. Необходимо пересмотреть лечебные подходы при затрудненном прорезывании с учетом современных условий существования индивидуума, в силу существенных акселерационных изменений молодых людей.

Цель. Изучить биохимические изменения в твердых тканях нижних третьих молярах, находящихся на этапе прорезывания, у мужчин и женщин при дисплазии соединительной ткани.

Материал и методы

Дизайн исследования. В исследовании приняли участие 38 человек (27 женщин, 11 мужчин, возраст 17-25 лет), которые находились на диспансерном наблюдении и лечении у врача-ортодонта и врача-стоматолога-хирурга в отделение стоматологии общей практики БУЗ Омской области «Городская клиническая стоматологическая поликлиника №1», «Центр диагностики и лечения дисплазии соединительной ткани» ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (Омск, Российская Федерация). У 21 участника эксперимента (16 женщин, 5 мужчин) была диагностирована дисплазия соединительной ткани,

остальные 17 являлись здоровыми и составили контрольную группу (11 женщин, 6 мужчин). Всем участникам проводилось удаление зубов 38, 48 с полностью сформированными корнями при затрудненном прорезывании (МКБ 10: К05.2 – острый перикоронит) в 2021-2022 гг. Все обратившиеся за хирургической стоматологической помощью дали информированное добровольное согласие на проведение оперативного вмешательства и участие в научном исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ Министерства здравоохранения РФ (выписка из протокола №12 от 17.11.2023 года).

Метод диагностики дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Диагностика ДСТ осуществляется по собственной методике, основана на расчете алгебраической суммы по отмеченным диспластическим признакам и включает 3 основных блока: наличие болезней, согласно МКБ-10, второй блок заполняется врачом-стоматологом из карты здоровья пациента и связан с висцеральными проявлениями ДСТ (тип конституции, костные, мышечные, кожные изменения), в заключительный блок внесены стоматологические и лицевые диспластические проявления.

По клиническим признакам определяется тяжесть дисплазии соединительной ткани путем несложного расчета с помощью математической формулы: $\boldsymbol{k = \sum_{i=1}^{45} k_i}$ – сумма баллов, набранная по всем критериям. Вводится в рассмотрение вспомогательная аппроксимационная функция $\boldsymbol{f(x) = [0,0000147x^3 - 0,0023644x^2 + 0,0588288x + 3,6102762]}$. Функция $f(x)$ принимает значение 1 при $65 \leq x \leq 82$, значение 2 при $50 \leq x \leq 64$ и значение 3 при $35 \leq x \leq 49$. Таким образом, если $f(k) = 1$, то диагностируется крайне тяжелая ДСТ; если $f(k) = 2$, то тяжелая ДСТ, если $f(k) = 3$, то средняя степень ДСТ, при значениях $x \leq 35$ ДСТ не выставляется.

Согласно приведенной классификации, все пациенты с ДСТ соответствовали дисплазии тяжелой степени.

Методика забора твердых тканей зубов. Зуб после экстракции очищали от фрагментов костной ткани и мягких тканей, с помощью алмазных дисков производили препарирование в проекции бугров зубов и жевательной поверхности в проекции эмалевого слоя на глубину не более 2 мм, на границе эмали и дентина производили забор эмалево-дентинного слоя, погружали диск на глубину не более 3-4 мм, третьим этапом производили забор дентинного слоя, погружали диск на глубину не более 7 мм. Для профилактики температурного воздействия на органический матрикс и минеральный компонент твердых тканей нижних зубов «мудрости» использовали обильное охлаждение дистиллированной водой. Полученные биоптаты эмали толщиной до 2 мм, эмалево-дентинного слоя толщиной до 1 мм, дентина до 3 мм высушивали в термостате при температуре 37 ^{0}C. После биоптаты раздельно помещали в костную мельницу, где с помощью молотка измельчали массу до порошкообразного состояния.

Метод получения и предварительной обработки ИК-спектров. Образцы эмали, дентина и эмалево-дентинного соединения высушивали до постоянной массы при температуре 105 °С в течение 6 часов и определяли массовую долю влаги. Порошки исследовали в таблетках, спрессованных в смеси с бромистым калием (соотношение 1:100, диаметр 3,5 мм). В качестве опорного спектра использован спектр чистого бромистого калия, предварительного высушенного при температуре ~600°С в течение 6 часов. ИК-спектры поглощения регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «ФТ-801» (СИМЕКС) в диапазоне 500-4000 $см^{-1}$ (число сканов 32, разрешение 4 $см^{-1}$). Коррекция базовой линий и нормализация спектров проведена с использованием программного обеспечения ZaIR 3.5 (СИМЭКС). На всех спектрах определяли положение и интенсивность полос поглощения (ПП).

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го процентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p<0.05$.

Для оценки возможности разделения исследуемых групп проведен дискриминантный анализ Statistica 10.0 (StatSoft). Для шести совокупностей данных (эмаль норма/ДСТ, дентин норма/ДСТ и ЭДС норма/ДСТ) построены функции дискриминации (канонические функции): (1) - первая функция проводит наилучшую дискриминацию между всеми группами, (2) - вторая функция является второй наилучшей, при этом функции являются ортогональными, то есть их вклады в разделение совокупностей не перекрываются. На диаграмме рассеяния канонических значений по горизонтальной оси показан результат дискриминации с использованием первой функции Основание 1 (Root 1), по вертикальной оси – с использованием второй функции Основание 2 (Root 2). Качество дискриминации качественно оценивается по смещению соответствующих точек относительно вертикальной и горизонтальной осей «0-0».

Результаты

Типичные ИК-спектры твердых тканей нижних третьих моляров в норме приведены на рисунке 1. Показано, что набор ПП для спектров эмали, эмалево-дентинного соединения (ЭДС), дентина по некоторым показателям одинаковый, однако интенсивности отдельных полос поглощения варьируются в значительной степени. Интенсивности полос поглощения 876, 967, 1418, 1454 и 1546 $см^{-1}$ снижаются от эмали к дентину, тогда как интенсивность полосы поглощения 1384 $см^{-1}$ увеличивается. Полосы поглощения в этой области характеризуют органическую составляющую в ИК-спектре твердых тканей зубов. Отмечено, что на ИК-спектрах эмали, эмалево-дентинного соединения, дентина существенно изменяется соотношение ПП

амида I и II и закономерно уменьшается интенсивность ПП фосфат-ионов (1050 см$^{-1}$) от эмали к дентину (Рис. 1).

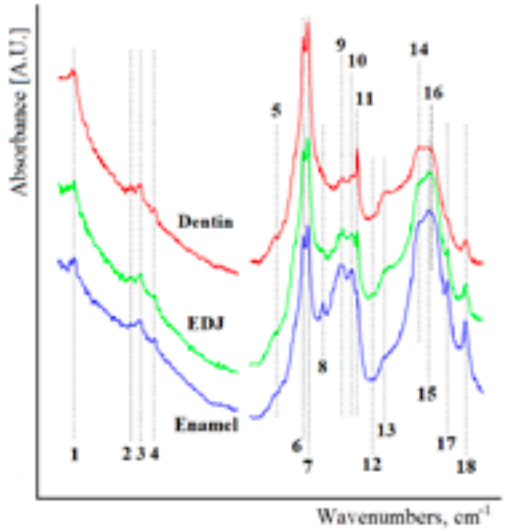


Рис. 1. Типичные ИК-спектры эмали, дентина и эмалево-дентинного соединения (ЭДС): 1 – 3239 см$^{-1}$ (νsO-H); 2 – 2963 см$^{-1}$ (νasCH3); 3 – 2922 см$^{-1}$ (νasCH2); 4 – 2855 см$^{-1}$ (νsCH2); 5 – 1769 см$^{-1}$ (νC=C); 6 и 7 - 1637 и 1618 см$^{-1}$ (νC=O); 8 – 1546 см$^{-1}$ (δN-H, νC-N); 9 – 1454 см$^{-1}$ (δasCH3, δCH2); 10 – 1418 см$^{-1}$ (νC-N, δN-H, δC-H); 11 – 1384 см$^{-1}$ (δCH3); 12 – 1342 см$^{-1}$ (CH2); 13 – 1249 см$^{-1}$ (δN-H, νC-N); 14 – 1106 см$^{-1}$ (νsPO, νCC, νCO); 15 – 1050 см$^{-1}$ (PO4); 16 – 1037 см$^{-1}$ (νCC, νCO, νCH2OH); 17 – 967 см$^{-1}$ (νPO4); 18 – 876 см$^{-1}$ (δO-C-O)

На первом этапе исследования мы провели сравнение ИК-спектров эмали, ЭДС, дентина с ДСТ и в норме без учета половой принадлежности методом дискриминантного анализа (Рис. 2). Показано, что образцы ЭДС, дентина независимо от наличия/отсутствия ДСТ группируются по одну сторону от вертикальной оси «0-0», тогда как образцы эмали расположены на диаграмме рассеяния по разные стороны от вертикальной оси. Различия между образцами дентина с ДСТ и без ДСТ не выявлены, они выделяются на диаграмме рассеяния единым полем. Максимальные изменения между группами с ДСТ и без ДСТ установлены для образцов эмали (Рис. 2). Таким образом, различия между группами с ДСТ и без ДСТ увеличиваются в следующем ряду: дентин, ЭДС, эмаль.

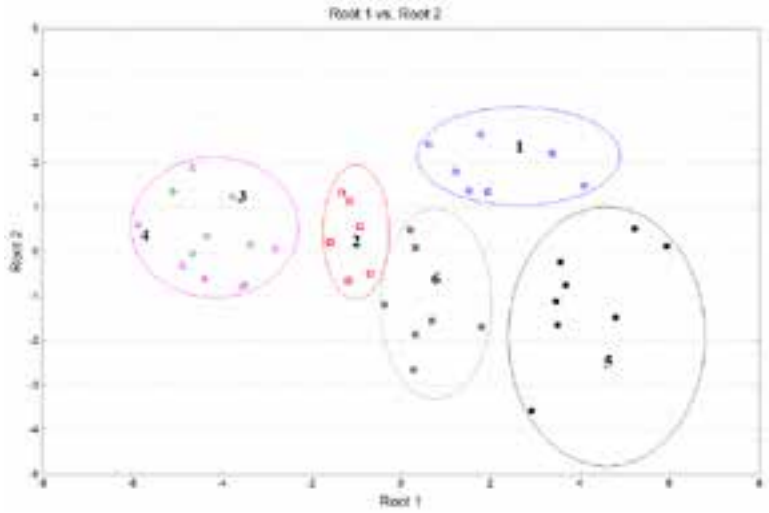


Рис. 2. Диаграмма рассеяния канонических значений для сравниваемых групп. 1 – эмаль норма, 2 – эмаль с ДСТ, 3 – дентин норма, 4 – дентин с ДСТ, 5 – ЭДС норма, 6 – ЭДС с ДСТ

На следующем этапе проведено сравнение ИК-спектров эмали, ЭДС, дентина отдельно в группах мужчин и женщин. Установлено, что характеристики полос поглощения на ИК-спектрах отличаются в большей степени для женщин, при этом все различия сосредоточены в области спектра 800-1600 $см^{-1}$. Статистически значимо отличаются положения полос поглощения 967, 1106, 1384, 1418 и 1546 $см^{-1}$ и высоты полос поглощения 876, 967, 1050, 1384, 1418 и 1546 $см^{-1}$. Отклонения в этих полосах поглощения показывают различия в органическом матриксе твердых тканей зубов «мудрости» за счет коллагеновых и неколлагеновых белков.

На рисунке 3А приведены результаты дискриминантного анализа ИК-спектров твердых тканей зубов у женщин с учетом наличия/отсутствия ДСТ. Отмечено, что изменения между всеми шестью группами выражены четко, где образцы дентина демонстрируют разделение на группы с ДСТ и без ДСТ. Максимальные различия наблюдаются между образцами эмали и дентина, они группируются по разные стороны вертикальной оси «0-0». Промежуточное положение занимают образцы ЭДС. Отклонения между образцами с ДСТ и без ДСТ также хорошо выражены, образцы с ДСТ расположены в основном ниже горизонтальной оси «0-0». У мужчин подобных закономерностей выявить не удалось (Рис. 3Б). На диаграмме рассеяния можно выделить только группу образцов дентина без разделения по наличию/отсутствию ДСТ, которая расположена правее вертикальной оси «0-0». Образцы эмали смещаются левее вертикальной оси, но статистически значимого разделения с образцами ЭДС не наблюдается (Рис. 3Б).

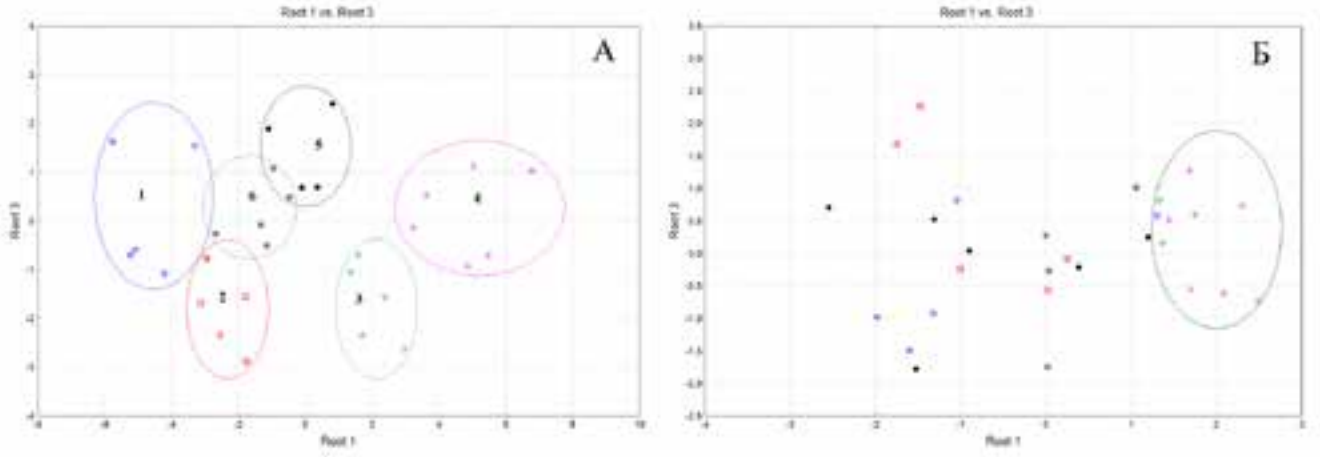


Рис 3. Диаграмма рассеяния канонических значений: А – для группы женского пола, Б – для группы мужского пола

Поскольку статистически значимые отличия наблюдались только в области спектра 800-1600 см$^{-1}$, то на следующем этапе мы детально сравнили данную область спектра для образцов эмали, ЭДС дентина мужчин и женщин с ДСТ и без ДСТ (Рис. 4, 5). Сравнение проводили по полосам поглощения: 876, 967, 1050, 1384, 1418 и 1546 см$^{-1}$. Выявлено, что при ДСТ наблюдается изменение соотношения интенсивностей ПП амида I (1618 и 1637 см$^{-1}$) и фосфат-ионов (1050 см$^{-1}$). Мы рассчитали коэффициент А = (I1618 + I1637)/I1050 и продемонстрировали, что данное соотношение для эмали зубов в норме в группе мужчин ниже, чем в группе женщин (3.89 [0.89; 10.1] и 16.3 [4.68; 38.4] у.е. для мужчин и женщин соответственно). На фоне ДСТ содержание органических веществ в эмали у женщин снижается, тогда как у мужчин увеличивается (17.4 [10.2; 37.0] и 6.34 [3.10; 14.7] у.е. соответственно).

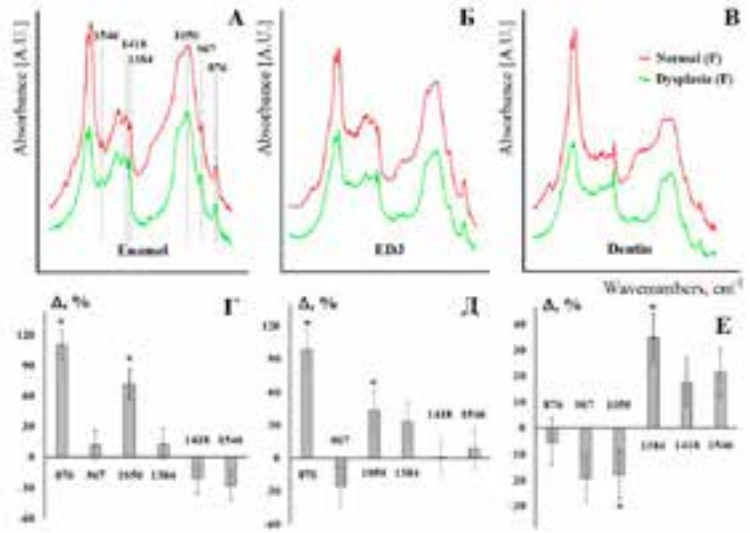


Рис. 4. Сравнение ИК-спектров образцов эмали (А), ЭДС (Б) и дентина (В) с ДСТ и без для группы женского пола. Относительное изменение интенсивности ПП на ИК-спектрах эмали (Г), ЭДС (Д) и дентина (Е) при ДСТ по сравнению с нормой

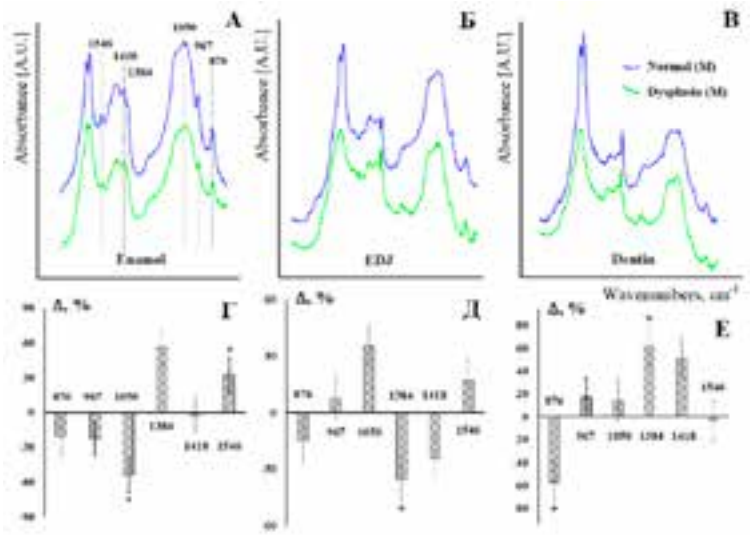


Рис. 5. Сравнение ИК-спектров образцов эмали (А), ЭДС (Б) и дентина (В) с ДСТ и без для группы мужского пола. Относительное изменение интенсивности ПП на ИК-спектрах эмали (Г), ЭДС (Д) и дентина (Е) при ДСТ по сравнению с нормой

Для дентина в норме коэффициент А выше как для женщин, так и для мужчин и снижается на фоне ДСТ, при этом снижение происходит на одну и ту же величину (-44,2% для женщин и -43,7% для мужчин). Соотношение интенсивностей ПП 1618 и 1637 $см^{-1}$, которые характеризуют неидентичные С=О связи в структуре твердых тканей зубов «мудрости», также меняется при ДСТ. Для эмали независимо от пола данное соотношение в норме выше, чем при ДСТ (1.25 [1.16; 1.42] для женщин и 1.49 [1.39; 1.52] у.е. для мужчин). При ДСТ для женщин соотношение 1618/1637 снижается до 1.18 [0.94; 1.45], сохраняется преобладающий вклад ПП 1618 $см^{-1}$, тогда как для мужчин интенсивности данных ПП практически выравниваются (0.98 [0.89; 1.21] у.е.). В дентине при ДСТ у женщин соотношение 1618/1637 $см^{-1}$ незначительно увеличивается (+4,5%), у мужчин снижается (-7,8%). Этот факт подчеркивает различия в соотношении органической и минеральной составляющей между мужчинами и женщинами в норме и при ДСТ, систематизированы различия в структуре белков, поскольку мы видим изменение соотношения складчатых (β) и α-спиральных структур белка (ПП 1618 и 1637 см-1). Все это характеризует относительное содержание фибриллярных (коллагеновых) и глобулярных (неколлагеновых) белков в структуре твердых тканей зуба.

На рисунках 4 и 5 продемонстрировано относительное изменение интенсивностей ПП в ИК-спектрах эмали, ЭДС, дентина при ДСТ по сравнению с нормой. Выявлено, что для женщин интенсивности ПП 876, 967 и 1050 $см^{-1}$ снижаются от эмали к дентину, тогда как ПП 1384, 1418 и 1546 $см^{-1}$ увеличиваются (Рис. 4Д-Ф). Для мужчин снижение интенсивности отмечено только для ПП 876 и 1546 $см^{-1}$, для остальных ПП значимых закономерностей выявить не удалось.

Заключение

На основании проведенного исследования установлено, что более выраженные биохимические сдвиги в органическом матриксе твердых тканей нижних третьих моляров на этапе прорезывания встречаются у женщин с дисплазией соединительной ткани. Медленная редукция органического матрикса в нижних зубах «мудрости» у женщин с дисплазией соединительной ткани приводит к их прорезыванию с низким уровнем зрелости. В группе мужчин наблюдается более стабильная и благоприятная ситуация в биохимическом спектре, а изменения затрагивают в большей степени минеральный компонент эмали с более зрелой структурой по мере продвижения зуба «мудрости» к окклюзионной плоскости. Проведенное исследование подтверждает мнение многих исследователей о значительной роли коллагеновых белков, которые совместно с неколлагеновыми белками участвуют в развитие и созревании твердых тканей зубов, отличающиеся выраженной неоднородностью и половым диморфизмом в группе с дисплазией соединительной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kjaer, I. Mechanism of human tooth eruption: review article including a new theory for future studies on the eruption process / I. Kjaer // Scientifica (Cairo). – 2014. – № 2014. – P. 341905.
2. Yu, Y. Function of Orofacial Stem Cells in Tooth Eruption: An Evolving Perspective / Y. Yu, C. Cui, S.Y. Guan, R.S. Xu, L.W. Zheng, X.D. Zhou, Y. Fan // Chinese Journal of Dental Research. – 2021. – Vol. 24. – № 3. – P. 143-152.
3. Marks, S.C. Jr. Tooth eruption: theories and facts / S.C. Jr. Marks, H.E. Schroeder // The Anatomical Record. – 1996. – Vol. 245. – № 2. – P. 374-393.
4. Marks, S.C. Jr. The mechanisms and mediators of tooth eruption-models for developmental biologists / S.C. Jr. Marks, J.P. Gorski, G.E. Wise // The International Journal of Developmental Biology. – 1995. – Vol. 39. – № 1. – P. 223-230.
5. Коршунов, А.С. Структура минерального компонента эмали ретинированных зубов в постнатальном периоде онтогенеза при дисплазии соединительной ткани / А.С. Коршунов, В.П. Конев, С.Н. Московский, В.О. Фирсова, К.Н. Курятников, В.Ю. Вавакин // Журнал научных статей здоровье и образование в XXI веке. – 2018. – Т. 20. – № 6. – С. 43-47.
6. McGuire, J.D. Type IV collagen is a novel DEJ biomarker that is reduced by radiotherapy / J.D. McGuire, J.P. Gorski, V. Dusevich, Y. Wang, M.P. Walker // Journal of Dental Research. – 2014. – Vol. 93. – № 10. – P. 1028-1034.
7. Kolmas, J. Mid-infrared reflectance microspectroscopy of human molars: Chemical comparison of the dentin-enamel junction with the adjacent tissues / J. Kolmas, E. Kalinowski, A. Wojtowicz, W. Kolodziejski // Journal of Molecular Structure. – 2010. – Vol. 966. – № 1-3. – P. 113-121.

8. Jaiswal, P. Prevalence of eruption status of wisdom teeth (Third molar) in Rajnandgaon (Chhattisgarh) population: A digital panoramic study / P. Jaiswal // International Journal of Applied Dental Sciences. – 2018. – Vol. 4. – № 3. – P. 158-160.
9. Wiedemann, C. Is Continuous Eruption Related to Periodontal Changes? A 16-Year Follow-up / C. Wiedemann, C. Pink, A. Daboul, S. Samietz, H. Völzke, E. Schulz-Kornas, K.F. Krey, B. Holtfreter, T. Kocher // Journal of Dental Research. – 2021. – Vol. 100. – № 8. – P. 875-882.
10. Иорданишвили, А.К. Анатомо-топометрические характеристики челюстей при прорезывании и ретенции зубов мудрости / А.К. Иорданишвили, Н.В. Коровин, А.А. Сериков // Проблемы стоматологии. – 2017. – Т. 13. – № 3. – С. 53-57.
11. Коровин, Н.В. Возрастные особенности прорезывания зубов мудрости у лиц призывного возраста / Н.В. Коровин, Г.А. Гребнев, А.К. Иорданишвили // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2018. – № 1 (61). – С. 121-126.
12. Ryalat, S. Impaction of lower third molars and their association with age: radiological perspectives / S. Ryalat, S.A. AlRyalat, Z. Kassob, Y. Hassona, M.H. Al-Shayyab, F. Sawair // BMC Oral Health. – 2018. – № 58. – P. 1-5.
13. Вагнер, В.Д. Влияние дисплазии соединительной ткани на сроки прорезывания и степень минерализации зубов человека / В.Д. Вагнер, В.П. Конев, А.С. Коршунов, С.Н. Московский, К.Н. Курятников, А.П. Скурихина // Стоматология. – 2021. – Т. 100. – № 5. – С. 7-14.
14. Коршунов, А.С. Лицевой и стоматологический статус человека с дисплазией соединительной ткани / А.С. Коршунов, В.П. Конев, В.Д. Вагнер, К.Н. Курятников, А.П. Скурихина, Л.В. Гафнер, А.А. Бондарь, В.И. Сергеев // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Т. 22. – № 11. – С. 95-99.
15. Sapkota, M.R. Position of Impacted Mandibular Third Molar in different Skeletal Facial Types / M.R. Sapkota, S. Bhatta, S. Shrestha, R.M. Shrestha // Orthodontic Journal of Nepal. – 2017. – Vol. 7. – № 2. – P. 15-19.
16. Gambier, A. Contribution of third molar eruption to the estimation of the forensic age of living individuals / A. Gambier, C, Rérolle, M. Faisant, J. Lemarchand, A. Paré, P. Saint-Martin // International Journal of Legal Medicine. – 2019. – Vol. 133. – № 2. – P. 625-632.
17. Кочетова, М.С. Факторы, влияющие на процесс прорезывания зубов / М.С. Кочетова // Практическая медицина. – 2009. – № 1(33). – С. 10-11.
18. Гайворонский, И.В. Анатомические причины затрудненного прорезывания нижних зубов мудрости / И.В. Гайворонский, А.К. Иорданишвили, Г.А. Васильченко, А.А. Пономарев // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2011. – Т. 12. – С. 1278-1297.
19. Hanisch, M. Primary failure of eruption (PFE): a systematic review / M. Hanisch, L. Hanisch, J. Kleinheinz, S. Jung // Head & Face Medicine. – 2018. – Vol. 14. – № 1. – P. 5.

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КАК ОСНОВА ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРИ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЯХ

А.М. Костинова[1], Е.А. Латышева[2,3], М.П. Костинов[1,4]

[1]ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Москва, ул.Трубецкая, д.8, стр.2

[2]ФГБУ“ГНЦ “Институт иммунологии”ФМБА России, 115522, Москва, Каширское шоссе,д.24

[3]ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" МЗ РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1

[4]ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5а

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИД) или врожденные дефекты иммунной системы представляют собой группу орфанных заболеваний, которые клинически в основном представлены рецидивирующими, тяжелыми или не типично протекающими инфекциями [1, 2]. Основной группой пациентов старше 18 лет с врожденными дефектами иммунной системы являются пациенты с нарушением синтеза антител, до 20% больных из группы пациентов с дефектом гуморального звена иммунитета — это лица с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН) [3]. Основной причиной госпитализаций, инвалидизации и преждевременной гибели таких пациентов являются осложнения инфекционных заболеваний в связи с нарушением способности синтеза антител в ответ на инфекцию, а также и на вакцинацию, в связи с чем до начала XXI века считалось, что вакцинация данной когорты больных небезопасна и нецелесообразна (для некоторых форм ПИД она даже является диагностическим критерием) [4]. Позиция по данному вопросу радикально изменилась в 2014 году, когда был опубликован первый позиционный документ, в котором вакцинация инактивированными препаратами была рекомендована всем пациентам с первичными иммунодефицитными заболеваниями, в том числе с нарушением синтеза антител [5, 6]. Однако доказательная база представлена недостаточно ввиду редкости встречаемости данной патологии в популяции, а также неодинаковой способности резидуального синтеза антител больными по причине разнородности дефектов внутри самой группы [3, 7]. При этом в настоящее время благодаря росту осведомленности врачей, усовершенствования способов рутинной диагностики и повышения доступности лабораторных исследований отмечается стремительный рост выявляемости больных с данным диагнозом [8]. В связи с чем необходимость и интерес к изучению эффективности вакцинации вновь остро стоит перед медицинским сообществом, имея своей целью улучшение качества жизни таких пациентов.

Ввиду редкости данной патологии, все имеющиеся на настоящее время исследования по изучению эффективности вакцинации против гриппа, как ежегодной «угрозы» населению в холодный период года, среди взрослых пациентов с ОВИН проведены на не совсем небольшой выборке, часто неоднородной, средним количеством до 10 человек [9-14]. Сложность на пути изучения эффективности вакцинации также представляет и ежегодная смена циркулирующих штаммов в разных полушариях, соответственно, разный штаммовый состав сезонных вакцин против гриппа. Компоненты вакцин также отличаются. С целью повышения иммуногенности вакцин для стимуляции синтеза антител в ранние сроки после введения препарата с 2009-2020 гг. стали применяться адъювантные вакцины, которые оказывают активирующее влияние на клеточное звено иммунитета, что особенно важно для усиления иммунного ответа у иммунокомпрометированных пациентов [15-20]. В связи с чем даже исследования на небольшой выборке пациентов с ОВИН играют важную роль в формировании знаний для медицинского сообщества в целом и вносят вклад в изучение и обмен опытом в вопросах вакцинации больных благодаря расширению и созданию международных баз данных и регистров.

На настоящий момент в мире не было проведено исследований по сравнению иммуногенности разных схем вакцинации против вируса гриппа среди пациентов с ОВИН, не изучено влияние четырехвалентных адъювантных вакцин против вируса гриппа на параметры как адаптивного, так и врожденного иммунитета, а также не была оценена клиническая значимость иммунизации на течение основного заболевания пациентов, что является актуальным не только с позиций научных исследований, но и для практического здравоохранения.

Цель

Целью данного исследования было изучить поствакцинальный иммунитет у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью при введении 3- и 4-валентных полимер-субъединичных (адъювантных) вакцин против гриппа.

Материалы и методы

Клиническая часть работы по оценке безопасности вакцинации была выполнена на базе отделения «Иммунопатологии взрослых» клиники ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, а лабораторные исследования – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» МЗ РФ.

Из регистра Института иммунологии в 2018 году были проанализированы 297 амбулаторных карт взрослых пациентов с ПИД со всей России и отобраны 203 пациента с диагнозом ОВИН, который был установлен в соответствии с критериями Европейского общества по Первичным иммунодефицитам (ESID). Однако в связи с коморбидностью больных и в

соответствии со строгими критериями включения в исследование, а именно перерыв в ежемесячной терапии ВВИГ 7 недель, ограниченными сроками проведения вакцинации против гриппа, то есть в осенне-зимний период, необходимостью купирования обострения при поступлении пациентов в стационар, ежегодной сменой штаммового состава вакцин против гриппа, провести иммунизацию оказалось возможным только 15 пациентам с ОВИН после получения информированного согласия.

Таким образом, в сезон гриппа 2018-2019 в исследовании приняли участие 6 пациентов с ОВИН, которым однократно вводилась 1 доза четырехвалентной адъювантной вакцины против вируса гриппа. Ровно через год 5 из 6 испытуемых были повторно вакцинированы трехвалентной адъювантной вакциной. В сезон гриппа 2019-2020 были иммунизированы еще 9 пациентов с ОВИН одномоментно двумя дозами трехвалентной адъювантной вакцины. В качестве группы контроля 1 дозой четырехвалентной вакцины были иммунизированы в сезон гриппа 2018-2019 также 32 здоровых добровольца.

Критерии включения и невключения:

• Подтвержденный диагноз ОВИН в соответствии с диагностическими критериями, установленными Европейским обществом по Иммунодефицитным заболеваниям и Американской академией по Аллергии, Астме и Иммунологии для диагностики ПИД [7].

• Исключены причины вторичной гипогаммаглобулинемии

• Проведение заместительной иммунотерапии препаратами ВВИГ не позднее, чем за 28 дней до вакцинации и не ранее, чем через 21 день после нее, то есть перерыв между двумя последующими введениями иммуноглобулинов не менее 7 недель

• Отсутствие симптомов гриппа и гриппоподобных заболеваний в течение последних 6 месяце

• Отсутствие симптомов острой инфекции на момент вакцинации

• Отсутствие приема на момент исследования и за 3 месяца до его начала глюкокортикостероидных препаратов или иной иммуносупрессивной терапии

• Отсутствие симптомов энтеропатии с потерей белка, а также подозрения на онкологическое или лимфопролиферативное заболевнаие у пациентов с ОВИН на момент исследования

• Отсутствие уровня специфических противовирусных антител в защитных титрах (>1:40) в довакцинальных образцах крови

• Наличие в анамнезе аллергии на яичные белки или компоненты исследуемой вакцины

• Исключены лица с когнитивными или поведенческими нарушениями, или психическими расстройствами, или злоупотребляющие алкоголем

• Проведение вакцинации против любых иных инфекций в течение 1,5-2 мес. до включения в исследование

• Добровольное подписание информированного согласия на участие в исследовании

У пациентов с ОВИН оценка критериев иммуногенности проводилась исключительно по индивидуальным показателям GMR (geometric mean rate) – среднее геометрическое соотношение между титрами антител после вакцинации и до вакцинации и GMT (geometric mean titers) – средний геометрический титр антител после вакцинации из-за небольшой выборки, а также по причине того, что условным показателем иммуногенности у пациентов с ОВИН принято считать повышение уровня АТ в 2-4 раза по сравнению с исходным, поэтому стандартные показатели иммуногенности считаются «грубыми» для них. Кроме того, проводилась оценка показателей основных субпопуляций лимфоцитов (CD3+CD19, CD3-CD19+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-, CD16/56+) и экспрессии толл-подобных (toll like receptor – TLR) или патоген-распознающих рецепторов на иммуноцитах, которые эволюционно играют ключевую роль в элиминации микробных агентов через привлечение фагоцитов или активацию дендритных клеток, которые связывают врожденный и адаптивный иммунный ответы и являются одним из наиболее мощных стимуляторов активации и созревания В-клеток, которые в последующем трасформируются в плазмоциты, продуцирующие антитела. Нами были проанализированы в динамике внутриклеточные TLR3, TLR8, TLR9, как чувствительные именно к вирусным детерминантам.

В состав используемых вакцин были включены по 5 мкг гемагглютинина 3 или 4 штаммов вируса гриппа соотвественно для 3- и 4-валентных вакцин, что является сниженным в 3 раза по сравнению со стандартным количеством (15 или 20 мкг), рекомендованным ВОЗ, за счет включения адъюванта – азоксимера бромида.

Результаты

В ходе исследования по наблюдению за течением поствакцинального периода у пациентов с ОВИН (15 пациентов), вакцинированных против гриппа с использованием четырех или трехвалентных вакцин как при первичной, так и при повторной (через 1 год) вакцинации одной или двумя одновременно дозами, лишь у 6% (1 пациент) местные реакции в виде умеренной гиперемии (диаметром до 50 мм) и локального отека появились через 2 часа после инъекции и сохранялись в течение трех суток после вакцинации. Только одна (6 %) системная реакция (озноб) была зарегистрирована в день вакцинации без последующего повышения температуры и регрессировала через 12 часов. Следует отметить, что, несмотря на длительный период без

проведения базисной терапии ВВИГ в течение 7 недель в связи с проведением вакцинации, ни одному из больных ОВИН не потребовалось его срочное введение до окончания вышеуказанного срока в связи с отсутствием обострения сопутствующей хронической патологии так же, как и присоединение ОРИ.

Касательно клинической эффективности следует отметить, что из 9 пациентов с ОВИН, вакцинированных одновременно двумя дозами вакцины, 2 пациента (22%) и одна пациентка (16%) из 6 больных, вакцинированных одной дозой препарата, отмечали в течение 2 месяцев после иммунизации значительное улучшение состояния, усиление активности, а также то, что при контакте с членами семей, проживавшими с ними на одной территории и заболевшими лабораторно подтвержденным вирусом гриппа, не отметили у себя симптомов заболевания.

На основании индивидуального анализа титра специфических антител у каждого пациента с ОВИН сравнивая иммуногенность на разных этапах вакцинации (первичная/повторная) только к штамму A/H1N1 через 3-4 недели после повторной вакцинации отмечается статистически значимый прирост среднего геометрического титра антител (АТ) по сравнению с уровнем до повторной вакцинации и с уровнем после первичной вакцинации (табл. 1). В группе же пациентов, вакцинированных двумя дозами, в отличие от результатов по пациентам, вакцинированных 1 дозой вакцины, выявлен статистически значимый прирост относительно исходного уровня по всем 3 штаммам (p=0,02).

Таблица 1. Средние геометрические титры АТ (GMT) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Штамм	Период	Группы первично вакцинированных пациентов с ПИД				Между группами
		1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)		
		GMT	95 % CI	GMT	95 % CI	
A/H1N1	До вакцинации	28	[15; 52]	25	[12; 54]	p = 0,94
	Через 24 ± 3 дня	22	[13; 39]	34	[16; 75]	p = 0,29
	Анализ изменений	p = 0,17		p = 0,02		–
	RLMEM[1] Доза: t (14) = -0,1, p = 0,93, Время: t (13) = -1,4, p = 0,19, Доза×Время: t (13) = 2,5, p = 0,02					
A/H3N2	До вакцинации	18	[6; 52]	11	[6; 19]	p = 0,30
	Через 24 ± 3 дня	22	[6; 85]	17	[10; 29]	p = 0,89
	Анализ изменений	p = 0,89		p = 0,01		–
	RLMEM Доза: t (17) = -1,0, p = 0,31, Время: t (13) = 0,1, p = 0,89, Доза×Время: t (13) = 2,1, p = 0,05					

B/Колорадо	До вакцинации	7	[4; 13]	7	[5; 10]	p = 0,91
	Через 24 ± 3 дня	7	[5; 11]	11	[7; 18]	p = 0,18
	Анализ изменений	p = 0,97		p = 0,02		–
	RLMEM Доза: t (21) = -0,1, p = 0,91, Время: t (13) = 0,04, p = 0,96, Доза×Время: t (13) = 2,5, p = 0,02					
[1] – применялась робастная линейная модель смешанных эффектов (RLMEM), где время после вакцинации («Время») и одни или две дозы вакцины («Доза») – фиксированные факторы, отдельные пациенты – случайные. Число степеней свободы представлено как t (df). Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели						

По среднему геометрическому приросту уровня АТ между первичной и повторной вакцинацией не было выявлено статистически значимых различий ни для одного из рассматриваемых штаммов (табл. 2). Однако средний геометрический прирост титра в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами статистически значимо выше, чем 1 дозой (p=0,03).

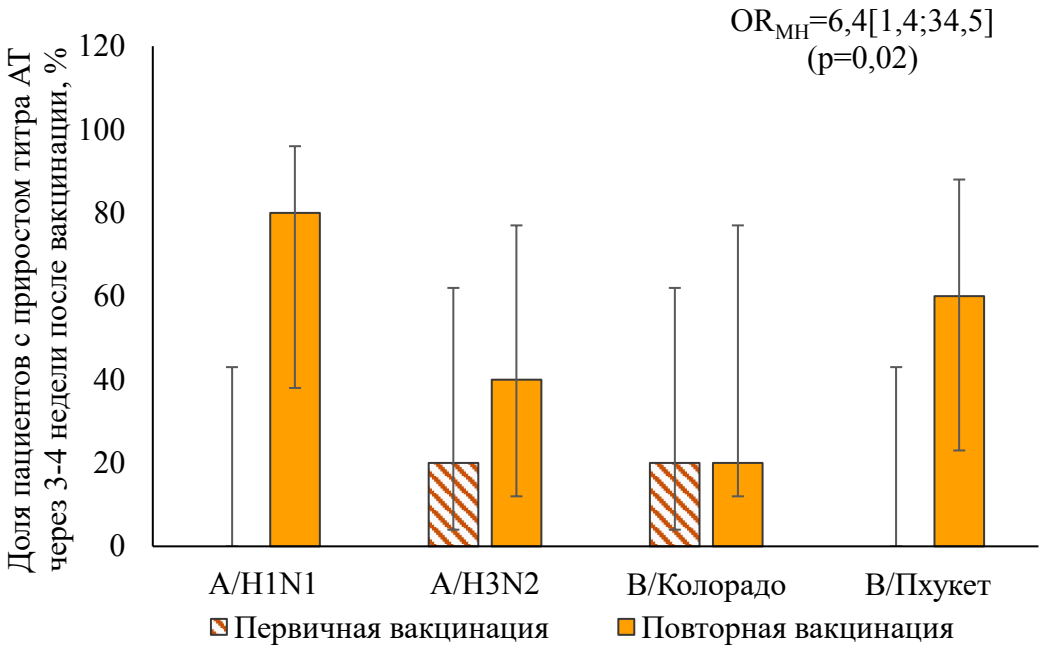
Таблица 2. Средний геометрический прирост уровня АТ (GMR) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Штамм	Группы исследования пациентов с ПИД				Между группами[1]
	1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)		
	GMR	95 % ДИ	GMR	95 % ДИ	
A/H1N1	0,79	[0,55; 1,16]	1,36	[1,03; 1,80]	p = 0,03
A/H3N2	1,00	[0,63; 1,58]	1,59	[1,00; 2,52]	p = 0,07
B/Колорадо	1,00	[0,63; 1,58]	1,59	[1,00; 2,52]	p = 0,21
[1] – применялся критерий Манна-Уитни					

В целом, если рассматривать все штаммы в совокупности, можно утверждать, что в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, случаи прироста титра АТ у отдельных пациентов являются единичными, в то время как в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами связанный характер выборок (каждый из 3-х штаммов рассматривался на одном и том же пациенте) показал, что обобщённый по всем рассматриваемым штаммам шанс 2-кратного

прироста АТ, в результате вакцинации двумя дозами в 9,3 раз выше (отношение шансов Мантеля-Хенселя), чем при вакцинации одной дозой (p=0,02), независимо от штамма (рис. 1).

Рисунок 1. Доля пациентов с 2-кратным и более приростом титра АТ через 24 ± 3 дня после вакцинации в зависимости от этапа, приведены процентные показатели и 95 % доверительный интервал (применялся критерий Кохрана-Мантеля-Хенселя с обобщением отношения шансов по штаммам)



При оценке субпопуляционной структуры лимфоцитов при разных схемах иммунизации статистически значимых различий в абсолютных показателях выявлено не было, отмечался лишь статически значимый прирост процентного содержания клеток CD3+CD19- и снижение CD19+CD3- через 3-4 недели после первичной вакцинации.

Переходя к анализам данных по TLR у пациентов с ОВИН, необходимо отметить, что у здоровых, которые были взяты в качестве группы контроля, было отмечено статистически значимое повышение экспрессии всех TLR3, TLR8, TLR9 на всех изучаемых иммуноцитах (p<0,05), кроме гранулоцитов. В то время как у пациентов с ОВИН и на гранулоцитах отмечается усиление экспрессии внутриклеточных рецепторов TLR3 и TLR9 (p<0,05). На моноцитах же вне зависимости от схемы иммунизации были получены полностью сопоставимые результаты по экспрессии всех внутриклеточных рецепторов, что вероятно свидетельствует о активации параметров врожденного иммунитета и неспецифической защиты против патогенов, усилении иммунного ответа.

Обсуждение

Повышение доли серопозитивных пациентов через 24 ± 3 дня после повторной вакцинации по сравнению с исходным уровнем, а также случаи 2-кратного прироста АТ после повторной вакцинации через год позволяют сделать выводы о том, что шанс 2-кратного прироста АТ в результате повторной вакцинации одной дозой в 6,7 раз выше, чем при первичной вакцинации одной дозой ($p = 0,02$), что подтверждает обоснованность рекомендаций по проведению ежегодной вакцинации против гриппа для пациентов с ОВИН от 2015 года. Наше исследование пока является единственным, определяющим и доказывающим целесообразность иммунизации у данной когорты больных, так как проведено измерение уровня антител не только в короткие сроки после вакцинации, но и с продолжительным интервалом в год.

Объединенный по всем штаммам шанс 2-кратного и более прироста после вакцинации двумя дозами в 9,3 раза выше по сравнению с вакцинацией одной дозой, что обосновывает и оправдывает применявшуюся схему иммунизации с введением двух доз вакцинного препарата. Сложно сравнить полученные результаты с данными другого исследования, авторы которого проводили иммунизацию одномоментно двумя дозами (автор описывает случайное повышение дозы до 2-кратной при первой иммунизации), так как оценка уровня антител проводилась после введения третьей, бустерной дозы через 3 недели после первичной иммунизации [14].

В настоящее время не существует единого мнения или унифицированных общепризнанных рекомендаций о том, как определять вакциноспецифический Т-клеточный ответ у людей. В основном эти анализы включают антиген индуцированные пролиферативные иммунные ответы, продукцию цитокинов или усиление регуляции специфических маркеров активации [11, 21]. Немаловажную роль в формировании поствакцинального иммунного ответа играют TLR. Активация TLR3 на мононуклерных клетках периферической крови, которые включают в себя лимфоциты (Т-, В- и NK-клетки), моноциты и дендритные клетки, а также фибробластах при ОВИН приводит к нормальной продукции IFN-α и IFN-β, потенциально обеспечивающих адекватную защиту от вирусов, а связывание TLR9 с помощью CpG-ДНК активирует нормальные В-клетки, усиливает экспрессию костимулирующих молекул, запускает секрецию IL-6 и IL-10 и опосредует Т-независимое переключение изотипов и продукцию специфических антител независимо от связывания рецепторов В-клеток (BCR) [16].

В проведенном нами исследовании также обнаружена значительная экспрессия TLR3, TLR8 и TLR9 после повторной вакцинации через год и одновременном введении двух доз адъювантных вакцин против гриппа и сопоставима с достоверным нарастанием уровней антител ко всем штаммам вируса гриппа, что не было отмечено при однократной вакцинации больных ОВИН одной дозой. Следовательно, ежегодная вакцинация против гриппа с использованием

одной и той же адъювантной вакцины способствует не только синтезу специфических IgG, но и временной неспецифической профилактике респираторных инфекций. Одномоментное введение двух доз вакцин также способствует достоверному нарастанию уровня поствакцинальных антител по сравнению с одной дозой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee / S. G. Tangye, W. Al-Herz, A. Bousfiha [et al.] // Journal of Clinical Immunology. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 24-64. DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3

2. Wasserman, R. L. Recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous immunoglobulin infusion in primary immunodeficiency diseases / R. L. Wasserman // Immunotherapy. – 2017. – Vol. 9. – № 12. – P. 1035-1050. DOI: 10.2217/imt-2017-0092

3. Human inborn errors of immunity: An expanding universe / L. D. Notarangelo, R. Bacchetta, J.-L. Casanova, H. C. Su // Science Immunology. – 2020. – Vol. 5. – № 49. –eabb1662. DOI: 10.1126/sciimmunol.abb1662.

4. Paul, W. E. Fundamental Immunology. 6th edition / W. E. Paul. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2008. – 1603 p.

5. Eibl, M. M. Vaccination in patients with primary immunedeficiency, secondary immunedeficiency and autoimmunity with immune regulatory abnormalities / M. M. Eibl, H. M. Wolf // Immunotherapy. – 2015. – Vol. 7. – № 12. – P. 1273-1292.

6. Executive Summary: 2013 IDSA Clinical Practice Guideline for Vaccination of the Immunocompromised Host / L. G. Rubin, M. J. Levin, P. Ljungman [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 58. – № 3. – P. 309-318.

7. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification / A. Bousfiha, L. Jeddane, C. Picard [et al.] // Journal of Clinical Immunology. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 66-81. DOI: 10.1007/s10875-020-00758-x.

8. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости / А. А. Мухина, Н. Б. Кузьменко, Ю. А. Родина [и др.] // Педиатрия им. Г. Н. Сперанского. – 2019. – Т. 98. – № 3. – С. 24-31.

9. Global influenza strategy 2019-2030 / Geneva : World Health Organization, 2019. – 34 p.

10. Cellular and humoral influenza-specific immune response upon vaccination in patients with common variable immunodeficiency and unclassified antibody deficiency / L. G. Hanitsch, M. Löbel, J. F. Mieves [et al.] // Vaccine. – 2016. – Vol. 34. – № 21. – P. 2417-2423.

11. Patients with humoral primary immunodeficiency do not develop protective anti-influenza antibody

titers after vaccination with trivalent subunit influenza vaccine / S. van Assen, A. Holvast, D. S. C. Telgt [et al.] // Clinical Immunology. – 2010. – Vol. 136. – № 2. – P. 228-235.

12. Influenza-specific IgG1 + memory B-cell numbers increase upon booster vaccination in healthy adults but not in patients with predominantly antibody deficiency / G. E. Hartley, E. S. J. Edwards, J. J. Bosco [et al.] // Clinical & Translational Immunology. – 2020. – Vol. 9. – № 10. – e1199. DOI: 10.1002/cti2.1199.

13. Predictive markers for humoral influenza vaccine response in patients with common variable immunodeficiency / A. Gardulf, H. Abolhassani, R. Gustafson [et al.] // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2018. – Vol. 142. – № 6. – P. 1922-1931.e2. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.02.052

14. Pandemic Influenza Vaccination Elicits Influenza-Specific CD4+ Th1-cell Responses in Hypogammaglobulinaemic Patients: Four case reports / G. Pedersen, A. Halstensen, H. Sjursen [et al.] // Scandinavian Journal of Immunology. – 2011. – Vol. 74. – № 2. – P. 210-218.

15. Polyoxidonium® Activates Cytotoxic Lymphocyte Responses Through Dendritic Cell Maturation: Clinical Effects in Breast Cancer / C. Alexia, M. Cren, P. Louis-Plence [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2019. – Vol. 10. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02693.

16. Prospective randomized open-label comparative study of immunogenicity after subunit and polymeric subunit influenza vaccines administration among mothers and infants / M. P. Kostinov, A. P. Cherdantsev, A. I. Kuselman [et al.] // Human Vaccines & Immunotherapeutics. – 2018. – Vol. 14. – № 12. – P. 2971-2978. DOI: 10.1080/21645515.2018.1507585.

17. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders / F. A. Bonilla, I. Barlan, H. Chapel [et al.] // Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. – 2016. – Vol. 4. – № 1. – P. 38-59. DOI: 10.1016/j.jaip.2015.07.025.

18. The impact of adjuvanted and non-adjuvanted influenza vaccines on the innate and adaptive immunity effectors / M. P. Kostinov, N. K. Akhmatova, E. A. Khromova [et al.] // Intech Open book series. Infectious diseases. Vol. 1. Influenza – Therapeutics and Challenges / Edited by S. K. Saxena. – InTech, 2018. – Chapter 5. P. 83-109.

19. Sobh, A. Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders / A. Sobh, F. A. Bonilla // The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. – 2016. – Vol. 4. – № 6. – P. 1066-1075. DOI: 10.1016/j.jaip.2016.09.012.

20. Adjuvanted influenza vaccine for the Italian elderly in the 2018/19 season: an updated health technology assessment / C. de Waure, S. Boccalini, P. Bonanni [et al.] // European Journal of Public Health. – 2019. – Vol. 29. – № 5. – P. 900-905. DOI: 10.1093/eurpub/ckz041.

21. Activation-induced Markers Detect Vaccine-Specific CD4+ T Cell Responses Not Measured by Assays Conventionally Used in Clinical Trials / G. Bowyer, T. Rampling, J. Powlson [et al.] // Vaccines. – 2018. – Vol. 6. – № 3. – P. 50. DOI: 10.3390/vaccines6030050.

КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ – НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Л.В. Кузьменко[1,2], Я.Д. Шанский[2], А.В. Комарова[1], Ю.А. Беспятых[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», Москва, Россия

[2]ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Центр молекулярной медицины и диагностики, Москва, Россия

Введение. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), продуцируемые кишечной микробиотой человека, являются первичными продуктами преобразования пищевых волокон в тонком кишечнике. КЦЖК – монокарбоновые кислоты с двумя – шестью атомами углерода. Согласно литературе, при наличии у пациента заболеваний, протекающих с дисбиотическими нарушениями, состав микробиоты будет изменяться в зависимости от тяжести таких заболеваний, что приводит к изменению соотношения продуцируемых ей КЦЖК. К таким заболеваниям относятся такие, как воспаление кишечника, ожирение, гипертония, ревматоидный артрит, диабет, рассеянный склероз и другие [1].

КЦЖК являются важным маркером, позволяющим судить о протекающих в организме дисбиотических нарушениях и протекании, вызвавших их заболеваний [2]. Недавние исследования показывают эффективность лечения описанных нарушений методом трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ), суть которого заключается в пересадке фекальной микробиоты донора реципиенту. Пересадка производится, как правило, после принятия курса антибиотиков, что увеличивает вероятность колонизации переселенных бактерий. При проведении исследований в дальнейшем метод также показал положительную динамику и эффективность при применении к пациентам, находящимся на иммунотерапевтическом лечении, а также пациентам с расстройствами аутистического спектра и прочим [3]. Таким образом, исследование состава микробиоты и количественный анализ КЦЖК в биоматериале донора и реципиента также позволяет сделать заключение об эффективности проводимого ТФМ.

Цель. Целью исследования было определение содержания КЦЖК в образцах кала реципиента и донора ТФМ методом газожидкостной хроматографии.

Методы. В качестве объекта исследования были выбраны образцы кала реципиентов с нарушениями микробиоты кишечника *(n*=22*)* и доноров микробиоты *(n*=5*)*.

Пробоподготовку проводили следующим по следующей методике. Навеску фекалий массой (~0,18 г) помещали в пластиковую пробирку типа «эппендорф», добавляли до 1,8 г 0,5 М раствор хлороводородной кислоты и перемешивали на мешалке типа Vortex (ELMI, Латвия) в

течение 4 часов. Далее пробирку с пробой центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 5 минут (центрифуга Eppendorf 5480R, Германия); супернатант объемом 0,5 мл переносили в новую пробирку и добавляли 0,45 мл ацетонитрила (HPLC-grade, VWR, Нидерланды) и 0,05 мл диоксана (внутренний контроль; «Химмед», Россия). Смесь встряхивали и центрифугировали при 13200 об./мин. в течение 15 минут. Полученный супернатант подвергали дальнейшему анализу.

Качественный и количественный анализ КЦЖК, в связи с их летучестью, проводили методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием. Работы проводили на газовом хроматографе «Кристалл 2000М» («Хроматэк», Россия). Микрошприцем (Gamilton) вводили 1 мкл надосадочной жидкости в испаритель хроматографа с детектором ионизации в пламени, снабженном кварцевой капиллярной колонкой Stabilwax-DA (Restek, США) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,33 мм. Неподвижная фаза – полярная (сополимер полиэтиленгликоля Carbowax с терефталевой кислотой в виде пленки толщиной 0,34 мкм). Подвижная фаза – азот с давлением на входе на входе в колонку 1,8 атм. Расход газа-носителя 2,0 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Соотношение потоков газа-носителя на сброс и в колонку 50:1. Время анализа составляло 20 мин. Режим работы – градиентный с температурой термостата 80°С (2 мин) → 220°С, температурой испарителя и детектора 220°С.

Статистический анализ и визуализацию данных выполняли с помощью программного обеспечения RStudio (2023.06.0+421, Posit Software, США); значимость различий средних по группе значений измеряли по гетероскедастическому критерию Стьюдента, силу корреляции показателей – по коэффициенту линейной корреляции Пирсона.

В обеих группах методом внутреннего стандарта были определены такие показатели как содержание (в мкг/г) уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4), изомасляной (iС4), валериановой (С5), изовалериановой (iС5), капроновой (С6) кислот, их общее содержание, отражающее метаболическую активность кишечной микрофлоры, анаэробный индекс (АИ) и отношение суммарного содержания кислот с разветвленной цепью (изомеров) к кислотам с неразветвленной цепью ($IsoC_n/C_n$).

Результаты. На рис. 1А представлены данные сравнительного содержания КЦЖК у доноров и реципиентов, которым показана ТФМ. По представленным данным можно заключить, что в группе реципиентов пул КЦЖК в целом снижен: медиана содержания уксусной кислоты 2.83 мкг/г, (для доноров – 13.53 мкг/г, p 0.023), пропионовой – 1.27 мкг/г (для доноров 5.98 мкг/г, p 0.003) масляной – 0.95 мкг/г (для доноров – 2.75 мкг/г, p 0.009), валериановой – 0.11 мкг/г (для доноров – 0.95 мкг/г, p 0.026). Различий в содержании капроновой кислоты не выявлено (0.11 мкг/г и 0.63 мкг/г для реципиентов и доноров, соответственно; p 0.088), вероятно, вследствие ограниченного количество образцов в группе доноров (n=5) и индивидуального варьирования показателей. Содержание кислот с разветвленной цепью также снижено: содержание

изомасляной составляет 0.21 мкг/г, для доноров 0.49 мкг/г (p 0.034), а изовалериановой – 0.34 мкг/г и 0.81 мкг/г, соответственно (p 0.013). Эти показатели, тем не менее, не влияют на различия в IsoCn/Cn и АИ. На тепловой карте (рис. 1В), где представлено сравнительное содержание продуктов КЦЖК в обеих исследуемых группах, выделяется донор 1, у которого отмечено высокое содержание анализируемых соединений, особенно пропионовой и масляной кислот, по сравнению с остальными исследованными индивидуумами, что объясняет вариацию показателе среди доноров. У донора 5, напротив, значительно снижено содержание уксусной кислоты (1,58 мкг/г) с одновременным подъемом прочих показателей.

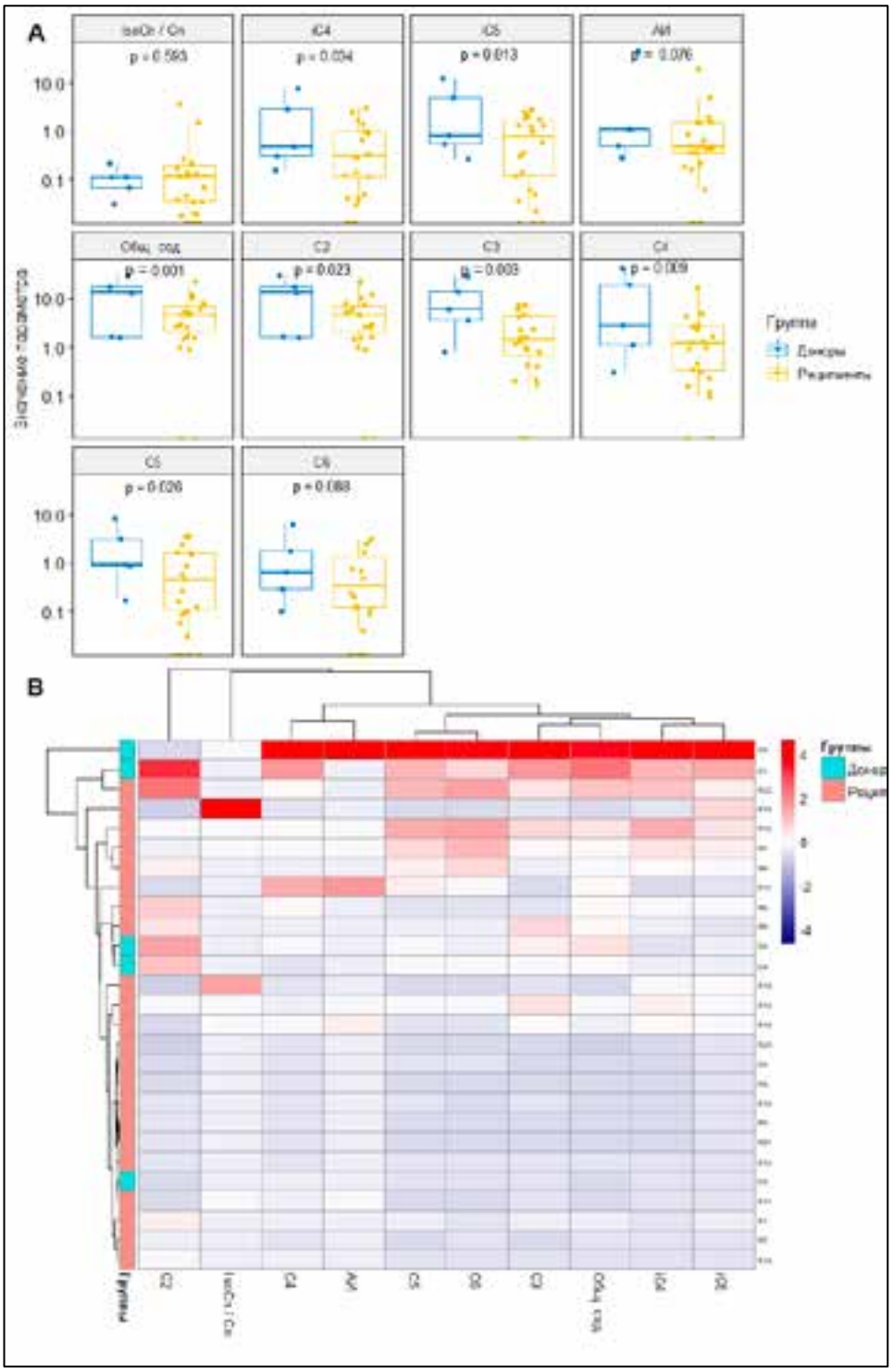


Рисунок 1. А – сравнительное содержание фракций КЦЖК у доноров и реципиентов. Представлены исходные данные (кружки), медиана (горизонтальная линия), интервал Q1–Q3 (ящик), интервал без выбросов (усы); В – тепловая карта относительной продукции КЦЖК в группах доноров и реципиентов

В группе доноров сильным является вклад каждой из отдельно взятых КЦЖК в общий пул кислот, а также сохраняется типичное для здорового человека соотношение уксусной, пропионовой и масляной кислот (примерно 60:20:20). Уровни индивидуальных КЦЖК сильно

коррелируют между собой в данной группе (R 0.80–1.00); корреляции большинства КЦЖК имеют статистически значимый характер (p <0.05), как показано на рисунке 2А.

Такой картины не наблюдается в группе реципиентов, что подтверждает изменение функционирования микробиоты кишечника реципиентов (рис. 2В). Прочие КЦЖК (валериановая, изовалериановая, капроновая) являются минорными, однако их вклад в общий пул в группе доноров также статистически значим. Уровни индивидуальных КЦЖК в меньшей степени коррелируют друг с другом, чем в группе доноров (значения коэффициента корреляции R более вариабельны, 0.06–0.98).

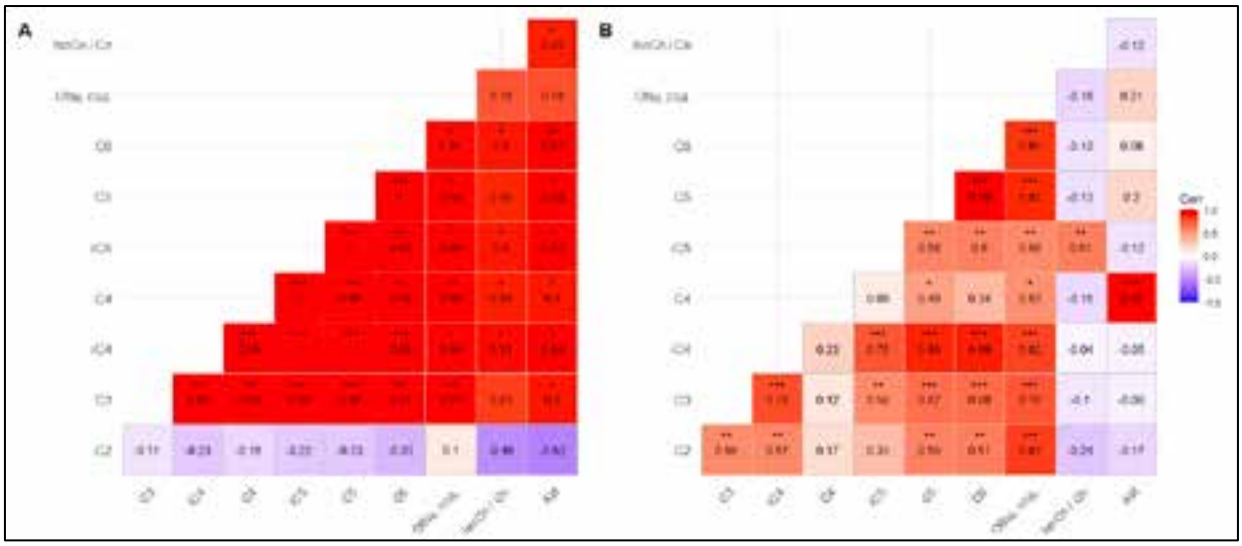


Рисунок 2. Корреляция уровня КЦЖК и связанных параметров в группах доноров (А) и реципиентов (В). *, p <0.05, **, p <0.01, ***, p <0.001

Выводы

На основании полученных результатов показано, что содержание большинства отдельных КЦЖК и их общего пула в группе доноров значительно выше в группе реципиентов, за исключением капроновой кислоты (p <0.05). Ацетат является мажорной среди КЦЖК, и изменения пула последних, как правило, связано со смещением в сторону представленности других кислот. Уровни индивидуальных КЦЖК сильно коррелируют между собой в данной группе; корреляции большинства КЦЖК имеют статистически значимый характер.

Общее содержание КЦЖК у пациентов, которым показана ТФМ, значительно снижено. Можно сделать вывод о том, что у реципиентов, нуждающихся в ТФМ, спектр КЦЖК сдвинут в сторону преобладания уксусной и пропионовой кислот, в то время как содержание кислот с более длинной и разветвленной цепью снижено. У реципиентов не выявлено изменений в значениях индексов АИ и $IsoC_n/C_n$.

Имеющиеся данные дают основание полагать, что КЦЖК могут быть информативными маркерами состояния кишечной микробиоты, даже при использовании данных только по уксусной и пропионовой кислотам.

Работа выполнена при финансовой поддержке АНО «Московский центр инноваций в здравоохранении» (договор № 2412-31/22).

ЛИТЕРАТУРА

1. Chambers E. S. Role of Gut Microbiota – Generated Short-ChainFatty Acids in Metabolkic and Cardiovascular Health / E.S. Chambers et al. // Current nutrition reports. 2018, V. 7. p.198-206

2. Kim, K.-S. An Improved Method to Quantify Short-Chain Fatty Acids in Biological Samples Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry / K.-S. Kim, Y. Lee, W. Chae, J.- Y.Cho // Metabolites. 2022, V. 12, 525.

3. Shtossel, O. Resipient-independent, high-accuracy FMT-response prediction and optimization in mice and humans / O. Shtossel et al. // Microbiome. 2023, V. 11:181. https://doi.org/10.1186/s40168-023-01623-w

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ АГОНИСТАМИ РЕЦЕПТОРОВ ГЛЮКАГОНОПОДОБНОГО ПЕПТИДА 1 ТИПА

Н.С. Курочкина (Natalia Sergeevna Kurochkina)

ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России

Аннотация

Цель. Оценить влияние терапии агонистами рецепторов глюкагоноподобного пептида 1 типа (арГПП-1) на секреторную активность жировой ткани на основании динамики лабораторных показателей (адипонектин, лептин, резистин) и соотношение белой и бурой жировой ткани с помощью магнитно-резонансной спектроскопии (МРС) у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, ожирением, сахарным диабетом.

Материалы и методы. В исследование включено 44 пациента с наличием ожирения и сердечно-сосудистыми заболеваниями. У 27 пациентов имелся сахарный диабет 2 типа. Всем пациентам проведена оценка общеклинического состояния, биохимический анализ крови, измерены уровни адипокинов (адипонектина, лептина, резистина), проведена МРС жировой ткани надключичной области, печени и подкожной жировой клетчатки (ПЖК) шеи исходно и через 6 месяцев после приема семаглутида, либо лираглутида.

Результаты. После приема агонистов рецепторов ГПП-1 у пациентов отмечается снижение массы тела, веса и окружности талии ($p<0,0001$). По результатам лабораторных анализов снижение уровня общего холестерина ($p=0,002$), холестерина ЛНП ($p=0,001$), триглицеридов ($p=0,006$) и лептина ($p<0,001$), повышение холестерина ЛВП ($p=0,02$). По результатам МРС снижение уровня триглицеридов в надключичной области ($p<0,0001$), ПЖК шеи ($p=0,004$) и печени ($p=0,02$).

Заключение. На фоне терапии агонистами рецепторов ГПП-1 отмечается снижение уровня триглицеридов в надключичной области, ПЖК шеи и печени, что рассматривается, как увеличение бурой жировой ткани и уменьшение белой жировой ткани.

Введение

Ожирение является одним из основных факторов риска, приводящим к развитию сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний [1]. В настоящее время разрабатываются неинвазивные методы лечения ожирения. Группой препаратов, показавших хорошие результаты в лечении ожирения, являются арГПП-1. В исследовании LEADER [2] с лираглутидом и SUSTAIN [3], STEP [4] с семаглутидом продемонстрирована положительная динамика не только в виде снижения массы тела, уровня глюкозы, но также находят отражение кардиопротективные и нефропротективные эффекты.

Для количественной и качественной оценки жировой ткани наиболее безопасным и оптимальным инструментальным методом исследования является магнитно-резонансная томография, в частности одновоксельная МРС. МРС позволяет оценить качественный состав жировой ткани, а также более точно дифференцировать бурую и белую жировые ткани [5].

В организме человека жировая ткань представлена – белой жировой тканью, которая накапливает энергию в виде триглицеридов, бурой жировой тканью, которая богата митохондриями и участвует в термогенезе, а также переходным вариантом жировой ткани – бежевой, которая обладает функциями, как белой, так и бурой жировой ткани [6].

В мировой литературе практически отсутствуют данные о влиянии терапии арГПП-1 на соотношение белой и бурой жировой ткани методом МРС. Основной целью при лечении ожирения является уменьшение объема белой жировой ткани. Целью исследования является изучение соотношения белой и бурой жировой ткани методом МРС у пациентов с ожирением, ССЗ, сахарным диабетом 2 типа, а также оценка динамики антропометрических, лабораторных показателей и изменения соотношения белой и бурой жировой ткани на фоне применения арГПП-1.

Материалы и методы

В данную работу были включены пациенты (n=44) с индексом массы тела (ИМТ) более 30 кг/м2, наличием сердечно-сосудистых заболеваний и начинающие прием одного из арГПП-1 (лираглутида, либо семаглутида). Критериями исключения из исследования являлись: сердечная недостаточность III-IV функционального класса по NYHA, СД 1 типа, гемодинамически значимые пороки сердца, воспалительные заболевания, гипо- или гипертиреоз, цирроз печени, нарушение функции почек (СКФ менее 30 мл/мин/1,73м2), острый коронарный синдром, а также плановое чрескожное коронарное вмешательство и коронарное шунтирование менее чем за 6 месяцев до включения в исследование.

Обследование пациентов проводилось после подписания информированного добровольного согласия. Протокол исследования был одобрен независимым этическим комитетом клинических исследований ФГБУ «ФГБУ НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России (протокол № 261 от 26.10.2020).

Всем пациентам была выполнена оценка общеклинического состояния, включающая сбор анамнеза, осмотр, анализ антропометрических данных, был проведен биохимический анализ крови (липидный профиль, глюкоза, гликированный гемоглобин), определен уровень адипокинов (адипонектина, резистина, лептина) в сыворотке крови. Сбор анамнеза включал оценку факторов риска развития ССЗ и имеющихся в наличие заболеваний сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Антропометрические исследования включали измерение роста, массы тела, окружности талии обследуемого.

Исследование проведено по разработанному в «ФГБУ НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России протоколу МРС [5], направленному на количественную оценку компонентов жировой ткани в надключичной области, ПЖК шеи и жировой ткани печени. Надключичная область является местом с наиболее высоким содержанием бурой жировой ткани, ПЖК шеи – референсная область с содержанием белой жировой ткани, в печени оценивался уровень триглицеридов для оценки выраженности висцерального ожирения.

МРС проводилась на магнитно-резонансном томографе Siemens Magnetom Aera 1.5 Т при комнатной температуре 25 С, с использованием катушек для головы, шеи и брюшной полости. После картирования поля были получены Т2-взвешенные изображения области шеи и плеч в трех проекциях – сагитальной, фронтальной и поперечной, а также брюшной полости в трех проекциях. Размер вокселя был выбран 10 × 10 × 10 мм. Стандартные спектроскопические параметры включали TR = 2000 мс, TE = 50 мс, ширину полосы = 2000 Гц/см и количество повторений = 50.

После получения срезов в трех проекция проводилась установка вокселя в жировом депо левой надключичной области, ПЖК шеи и печени для измерения содержания воды и триглицеридов.

Для снижения вероятности появления артефактов на спектральной кривой было необходимо правильно позиционировать на изображениях паренхимы печени, надключичной области и ПЖК шеи спектроскопический воксель, избегая крупные сосуды и желчные протоки. Проведение МРС печени выполнялось с задержкой дыхания длительностью 10-15 секунд. Время сканирования занимало около 20 минут без введения контрастного усиления. Обработка спектров (шумовую фильтрацию, коррекцию базовой фазы и подгонку пиков) проводилась с помощью программного обеспечения Syngo.via (Siemiens, Healthinners, Германия). Содержание триглицеридов в надключичной области,

ПЖК шеи, печени определялось путем интегрирования для каждого спектра частотной области и выражения результата в процентах от водного сигнала (% триглицеридов = Sт/(Sв+Sт) × 100%), где Sт – площадь под пиком триглицеридов, Sв – площадь под пиком воды. Полученный процент содержания триглицеридов отражает соотношение белой и бурой жировой ткани. Отличительной особенностью спектроскопической кривой печени является более высокий пик воды в сравнении с пиком триглицеридов, а в свою очередь в надключичной области и ПЖК шеи отмечается более высокий пик триглицеридов, в сравнении с пиком воды.

Для валидации метода проводилась оценка показателей у здоровых добровольцев и пациентов без ожирения с атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Процент триглицеридов, соответствующий бурой жировой ткани в надключичной области является менее 85%.

После первого визита и проведения МРС пациенты начинали прием семаглутида с титрацией дозы: первые 4 недели по 0,5 мг 1 раз в неделю подкожно, с 5 недели 1,0 мг 1 раз в неделю подкожно, либо лираглутида с титрацией дозы от 0,6 мг 1 раз в день подкожно, еженедельно увеличивая дозу на 0,6 мг/сут до достижения лечебной дозировки 3 мг 1 раз/сут, минимальный курс приема составлял 6 месяцев. При повторном визите через 6 месяцев проводилось биохимическое исследование венозной крови, определение уровня адипокинов и магнитно-резонансная спектроскопия жировой ткани в надключичной области, ПЖК шеи и печени.

Статистическая обработка проведена с использованием программы MedCalc® statistical software и Microsoft Excel. Количественные данные в группах представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M±σ) для показателей с нормальным распределением и медианы с интерквартильным разбросом [25%; 75%] для показателей с распределением, отличным от нормального. Категориальные данные в группах представлены долями категорий (%).

Аналитическую статистику выполняли с использованием t критерия Стъюдента для количественных данных с нормальным распределением или теста Манна-Уитни для количественных данных с распределением, отличным от нормального. Для сравнения по качественным признакам — $\chi 2$ тест. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В исследование включены результаты 44 пациентов со средним возрастом 55± 11, из которых 20 мужчин и 24 женщины. В данной группе у 86,4 % пациентов имелась гипертоническая болезнь, ИБС была у 54,5 %, метаболический синдром встречался в 68,2 % случаев, а СД 2 типа у 61,4 % пациентов. 27 пациентам, имеющим СД 2 типа был назначен семаглутид, а 17 пациентам без СД 2 типа был назначен лираглутид. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов, принимавших агонисты рецепторов ГПП-1 (n=44)

Показатель	Значение
Возраст, лет	55 ± 11
Мужчины	20 (45,5%)
Курение	10 (22,8%)
Гипертоническая болезнь	38 (86,4%)
ИБС	24 (54,5%)
Инфаркт миокарда	8 (18,2%)
Коронарное шунтирование	2 (4,5%)
Стентирование КА	16 (36,4%)
Атеросклероз БЦА	20 (45,5%)
Метаболический синдром	30 (68,2%)
Сахарный диабет 2 типа	27 (61,4%)
Жировой гепатоз	23 (52,3%)
Терапия	
Статины	32 (72,8%)
Статины и Эзетимиб	12 (27,3%)
Метформин	25 (56,8%)
Препараты сульфонилмочевины	3 (6,8%)
Ингибиторы SGLT2	4 (9,1%)
Лираглутид	17 (38,6%)
Семаглутид	27 (61,4%)

Примечание: ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид 1 типа, ИБС – ишемическая болезнь сердца, КА – коронарные артерии, БЦА – брахиоцефальные артерии, SGLT2 – натрий-глюкозный ко-транспортер 2 типа.

Проведена оценка эффективности терапии в динамике через 6 месяцев у пациентов, принимавших семаглутид и лираглутид. Как в группе пациентов, принимавших семаглутид

(таблица 2), так и лираглутид (таблица 3) отмечается достоверное снижение уровня триглицеридов в надключичной области, ПЖК шеи и печени.

Таблица 2. Динамика показателей МРС у пациентов, принимавших семаглутид

Показатели МР-спектроскопии			
Показатель	1 точка n=27	2 точка n=27	p
Надключичная область, процент триглицеридов	0,96±0,01	0,92±0,03	**0,05**
Подкожно-жировая клетчатка шеи, процент триглицеридов	0,98[0,97;0,99]	0,94[0,92;0,98]	**0,01**
Печень, процент триглицеридов	0,14±0,12	0,06±0,04	**0,006**
Наличие жирового гепатоза			
Жировой гепатоз	15 (55,5 %)	7 (25,9 %)	0,12

Примечание: МРС – магнитно-резонансная спектроскопия.
Данные представлены как M±SD, где M – среднее, SD – стандартное отклонение для показателей с нормальным распределением или медиана [25%;75%] для показателей с ненормальным распределением или n (%).
Для удобства статистической обработки процент триглицеридов представлен как доля от целого.

Таблица 3. Динамика показателей МРС у пациентов, принимавших лираглутид

Показатели МР-спектроскопии			
Показатель	1 точка n=17	2 точка n=17	p
Надключичная область, процент триглицеридов	0,94±0,02	0,91±0,02	**0,05**
Подкожно-жировая клетчатка шеи, процент триглицеридов	0,98±0,01	0,96±0,03	**<0,001**
Печень, процент триглицеридов	0,07 [0,05;0,12]	0,04[0,02;0,09]	**0,05**
Наличие жирового гепатоза			
Жировой гепатоз	8 (47,1 %)	3 (17,6 %)	0,15

Примечание: МРС – магнитно-резонансная спектроскопия. Данные представлены как M±SD, где M – среднее, SD – стандартное отклонение для показателей с нормальным распределением или медиана [25%;75%] для показателей с ненормальным распределением или n (%). Для удобства статистической обработки процент триглицеридов представлен как доля от целого.

По результатам повторного визита через 6 месяцев на фоне терапии агонистами рецепторов ГПП-1 в комбинации со сбалансированной диетой, направленной на снижение веса и умеренной физической активности отмечается положительная динамика – в виде объективного снижения массы тела, ОТ и ИМТ ($p<0,0001$). Снижение веса и ОТ в этой группе составляло 10 %, ИМТ в начале лечения составлял - 34,9±4,4 кг/м^2, после завершения курса терапии - 31,4±3,9 кг/м^2. По результатам лабораторных анализов

достоверное снижение ОХС (4,2±1,5 ммоль/л против 5,3±1,7 ммоль/л, p=0,002), ХС ЛНП (2,2±1,3 ммоль/л против 3,2±1,5 ммоль/л, p=0,001), ТГ (1,4±0,4 ммоль/л против 1,8±0,9 ммоль/л, p=0,006) и увеличение ХС ЛВП (1,3±0,3 ммоль/л против 1,2±0,3 ммоль/л, p=0,02), тенденция к снижению уровня глюкозы (5,3±1,6 ммоль/л против 6,0±2,0 ммоль/л, p=0,08). В том числе учитывая снижение объема жировой ткани отмечается снижение уровня лептина (24,9±14,6 нг/мл против 34,2±20,5 нг/мл, p<0,001).

По результатам МРС на фоне терапии отмечено снижение уровня триглицеридов в надключичной области (0,92±0,02 против 0,95±0,02, p<0,0001) (рисунок 6), что свидетельствует о снижении количества белой жировой ткани и увеличения бурой жировой ткани. В ПЖК шеи снижение уровня триглицеридов составило (0,96 [0,93; 0,98] против 0,98 [0,97; 0,98] исходно, p=0,004) (рисунок 7), что показывает уменьшение количества белой жировой ткани подкожно-жировой клетчатки. Уровень триглицеридов печени так же достоверно снизился на фоне проводимой терапии (0,05 [0,02; 0,09] против 0,07 [0,05; 0,20], p=0,02) (рисунок 8). Исходно у 52,3 % пациентов имелся жировой гепатоз (уровень триглицеридов варьировал от 6,7 % до 35 %) после завершения курса приема препаратов в данной группе отмечается достоверное снижение его выраженности (уровень триглицеридов варьировал от 5,9 % до 13,8 %). Данные представлены в таблице 4.

Таблица 4. Динамика показателей у пациентов с ожирением, принимавших агонисты рецепторов ГПП-1

Показатель	1 точка n=44	2 точка n=44	p
Вес, кг	102,7±19,2	92,4±16,9	**<0,0001**
ИМТ, кг/м^2	34,9±4,4	31,4±3,9	**<0,0001**
ОТ, см	110,0±13,5	99,2±11,8	**<0,0001**
Лабораторные показатели			
ОХС, ммоль/л	5,3±1,7	4,2±1,5	**0,002**
ХС ЛНП, ммоль/л	3,2±1,5	2,2±1,3	**0,001**
ХС ЛВП, ммоль/л	1,2±0,3	1,3±0,3	**0,02**
ТГ, ммоль/л	1,8±0,9	1,4±0,4	**0,006**
Глюкоза, ммоль/л	6,0±2,0	5,3±1,6	0,08
Адипонектин, нг/мл	6,0 [3,9;10,5]	8,5 [4,9;11,5]	0,13
Резистин, нг/мл	4,9 [4,1;6,6]	4,8 [4,3;5,9]	0,41
Лептин, нг/мл	34,2±20,5	24,9±14,6	**<0,001**

Показатели МР-спектроскопии			
	1 точка	2 точка	p
Надключичная область, процент триглицеридов	0,95±0,02	0,92±0,02	**<0,0001**
Подкожно-жировая клетчатка шеи, процент триглицеридов	0,98[0,97;0,98]	0,96[0,93;0,98]	**0,004**
Печень, процент триглицеридов	0,07 [0,05;0,20]	0,05[0,02;0,09]	**0,02**
Наличие жирового гепатоза			
Жировой гепатоз	23 (52,3 %)	10 (22,7 %)	0,07

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, ОТ – окружность талии, ОХС – общий холестерин, ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ТГ – триглицериды.
Данные представлены как M±SD, где M – среднее, SD – стандартное отклонение для показателей с нормальным распределением или медиана [25%;75%] для показателей с ненормальным распределением или n (%)
Для удобства статистической обработки процент триглицеридов представлен как доля от целого.

Обсуждение. Ожирение является одним из основных заболеваний, приводящих к развитию атеросклероза. Белая жировая ткань обладает проатерогенными свойствами, увеличивающими риск развития атеросклероза у пациентов с ожирением, бурая жировая ткань обладает антиатерогенным эффектом [6]. По мере увеличения степени ожирения, увеличивается количество белой жировой ткани. В исследовании находит отражение положительное действие арГПП-1 в виде изменения соотношения белой и бурой жировой ткани в сторону уменьшения белой и увеличения бурой.

Для оценки эффективности терапии арГПП-1 были отобраны пациенты с ожирением, сердечно-сосудистыми заболеваниями, СД 2 типа. При оценке показателей в динамике отмечается достоверное снижение показателей липидного профиля (ОХС - p=0,002, ХС ЛНП - p=0,001, ТГ - p=0,006), уровня лептина (p<0,001), тенденция к снижению глюкозы (p=0,08), а также достоверное снижение уровня триглицеридов в надключичной области (p<0,001), ПЖК шеи (p=0,004) и печени (p=0,02).

Такие положительные эффекты, как восстановление функции жировой ткани у пациентов с ожирением, потеря ей проатерогенных свойств, приобретение антиатерогенных свойств, влияние на систему адипокинов, снижение уровня факторов воспаления являются одним из ключевых моментов лечения пациентов с ожирением и ССЗ атеросклеротического генеза. Раскрытие данного механизма действия агонистов

рецепторов ГПП-1 позволит расширить показания к их применению у пациентов с атеросклерозом.

Заключение. Представленный в работе оптимизированный протокол одновоксельной МРС позволяет использовать данный метод для количественной оценки белой и бурой жировой ткани, в том числе появилась возможность более точного определения дифференциации белой и бурой жировой ткани. Лечение арГПП-1 пациентов с ожирением и АССЗ, как с наличием, так и отсутствием СД 2 типа ведет к перераспределению белой и бурой жировой ткани в сторону увеличению бурой по данным МРС, а также к изменению уровня адипокинов в виде уменьшения уровня лептина. В связи с этим рекомендуется добавление к терапии арГПП-1 у пациентов с ожирением и сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза вне зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета 2 типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойцов С.А., Драпкина О.М., Шляхто Е.В., Конради А.О., Баланова Ю.А., Жернакова Ю.В., Метельская В.А., Ощепкова Е.В., Ротарь О.П., Шальнова С.А. Исследование ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации). Десять лет спустя // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – – 2021. – Т. 20. – №. 5. – С. 3007.
2. Buse JB, Bain SC, Mann JFE, Nauck MA, Nissen SE, Pocock S, Poulter NR, Pratley RE, Linder M, Monk Fries T, Ørsted DD, Zinman B; LEADER Trial Investigators. Cardiovascular Risk Reduction With Liraglutide: An Exploratory Mediation Analysis of the LEADER Trial // Diabetes Care. – 2020. – Т. 43. – №. 7. – С. 1546-1552.
3. Wilding J. P., Batterham R. L., Calanna S., Davies M., Van Gaal L. F., Lingvay I., Kushner R. F. Once-weekly semaglutide in adults with overweight or obesity // New England Journal of Medicine. – 2021. – Т. 384. – №. 11. – С. 989-1002.
4. Kushner R.F., Calanna S., Davies M., Dicker D., Garvey W.T., Goldman B., Rubino D. Semaglutide 2.4 mg for the treatment of obesity: key elements of the STEP trials 1 to 5 //Obesity. – 2020. – Т. 28. – №. 6. – С. 1050-1061.
5. Koksharova E., Ustyuzhanin D., Philippov Y., Mayorov A., Shestakova M., Shariya M., Dedov I. The relationship between brown adipose tissue content in supraclavicular fat depots and insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus and prediabetes // Diabetes technology & therapeutics.– 2017. – Т. 19. – №. 2. – С. 96-102
6. Курочкина Н.С., Сергиенко И.В., Попова А.Б., Нозадзе Д.Н., Малышев П.П. Физиологическая и патологическая роль жировой ткани в атерогенезе // Атеросклероз и дислипидемии. – 2020. – №. 3. – С. 15-29.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕВЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В ПЛОТНЫХ ТКАНЯХ ОРОФАЦИАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СКОРОСТЬ ПРОРЕЗЫВАНИЯ ЗУБОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

К.Н. Курятников, А.С. Коршунов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Особое внимание врачей различных медицинских специальностей в последнее время привлекает дисплазия соединительной ткани - большая группа наследственных состояний, приводящих к мутациям в разных генах, проявляющихся различными клиническими фенотипами, в конечном итоге внешнему виду человека [1-4]. Системная патология соединительной ткани захватывает все органы и ткани, в том числе челюстно-лицевую область (гипермобильность суставов, изменение в пародонте, слюнных железах, нарушение прикуса зубов и зубных рядов) [1-3]. При дисплазии соединительной ткани снижена скорость созревания минерального компонента эмали зубов и морфоструктурные характеристики костной ткани в молодом возрасте, что в свою очередь отражается на качественных параметрах эмали и костной ткани в более позднем возрасте, определяя ее жесткость, подверженность патологическим состояниям зубочелюстного аппарата [5-8]. Указанные изменения нарушают нормальный процесс развития и прорезывания зубов человека, предотвращая слаженность генетически-детерминированного комплекса физико-химических процессов, происходящих в эмали зубов и костной ткани [5,9-14].

Распространенность дисплазии соединительной ткани в популяции высока, проявления ее в организме человека отличаются большим разнообразием с фенотипическими особенностями и генетическими моделями, как среди целого рода, так и в пределах одного зубного ряда индивидуума [1-3,5]. Несомненно, указанные проблемы изменяют течение, характер физиологических и патологических процессов в челюстно-лицевой области, что определяется общими законами природы и эволюционного единства организма, в итоге при дисплазии соединительной ткани, характеризуется ранними акселерационными изменениями [2,3]. Это приводит к преждевременному или позднему прорезыванию зубов, что негативно отражается на функциональной и эстетической способности жевательного аппарата [5,6,15-18]. С учетом вышесказанного, можно поставить под сомнение известные теории прорезывания зубов, которые отражают течение указанных процессов в физиологических условиях [19]. Резюмируя результаты исследований прошлых лет, можно утверждать, что механизмы прорезывания зубов недостаточно изучены в научном мире, итогом чего можно выделить основные две теории, описывающие

процессы развития и прорезывания зубов человека, происходящие под влиянием физико-химических факторов в самом зубе или в окружающей костной ткани, где наблюдается разрастание костного мозга губчатого вещества альвеолярного отростка, появление специфической клеточной активности остеокластов, остеобластов. Авторы данной модели указывают, что в костной ткани происходит остеокластическая резорбция и одновременная регенерация, когда функциональная способность не нарушается [19]. Поиск механизмов и характера прорезывания зубов при дисплазии соединительной ткани можно считать актуальной и востребованной темой для фундаментальной и прикладной стоматологии.

К настоящему времени доказано наличие возрастного диморфизма зубов человека. Объективная оценка морфометрических и морфологических параметров зубов необходима в комплексном изучении возрастной изменчивости зубочелюстного аппарата, а также редукционных процессов, которые проходят в различные возрастные периоды по-разному.

Цель. Изучить скорость созревания минерального компонента ретинированных зубов 38, 48 и фрагмента нижней челюсти человека при дисплазии соединительной ткани в различные периоды постнатального онтогенеза.

Материал и методы исследования

Дизайн исследования. Исследование проведено в отделении стоматологии общей практики БУЗ Омской области «Городская клиническая стоматологическая поликлиника №1» на 102 пациентах мужского пола (возраст от 31 до 60 лет), обратившихся по поводу удаления ретинированного зуба 38 или 48 по ортодонтическим или ортопедическим показаниям. Основную группу составили 76 человек с дисплазией соединительной ткани (ДСТ), группу сравнения – 26 человек без ДСТ. Комплексная оценка определения ДСТ осуществлялась по собственной методике. Все обследованные (с ДСТ и без ДСТ) были разделены на 3 возрастные подгруппы: 31–40 (n=25; n=8), 41–50 (n=25; n=9), 51–60 (n=26; n=9) лет. Для исследования неорганического компонента эмали зубов проводилась денситометрическая оценка ее оптической плотности с помощью компьютерной томографии в программе Kodak Dental Systems (Trophy 2000).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ Министерства здравоохранения РФ (выписка из протокола №12 от 17.11.2023 года).

Метод диагностики дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Диагностика ДСТ осуществляется по собственной методике, основана на расчете алгебраической суммы по отмеченным диспластическим признакам и включает 3 основных блока: наличие болезней, согласно МКБ-10, второй блок заполняется врачом-стоматологом из карты здоровья пациента и связан с висцеральными проявлениями ДСТ (тип конституции, костные, мышечные, кожные изменения), в заключительный блок внесены стоматологические и лицевые диспластические проявления. По клиническим признакам определяется тяжесть дисплазии соединительной ткани

путем несложного расчета с помощью математической формулы: $\boldsymbol{k = \sum_{i=1}^{45} k_i}$ – сумма баллов, набранная по всем критериям. Вводится в рассмотрение вспомогательная аппроксимационная функция $\boldsymbol{f(x) = [0,0000147x^3 - 0,0023644x^2 + 0,0588288x + 3,6102762]}$. Функция $f(x)$ принимает значение 1 при $65 \leq x \leq 82$, значение 2 при $50 \leq x \leq 64$ и значение 3 при $35 \leq x \leq 49$. Таким образом, если $f(k) = 1$, то диагностируется крайне тяжелая ДСТ; если $f(k) = 2$, то тяжелая ДСТ, если $f(k) = 3$, то средняя степень ДСТ, при значениях $x \leq 35$ ДСТ не выставляется. Согласно приведенной классификации, все пациенты с ДСТ соответствовали дисплазии тяжелой степени.

Методика подготовки образцов твердых тканей зубов для исследования. Производится забор интактных зубов 38 или 48, удаленных по ортодонтическим показаниям. Подготовка шлифов образцов осуществлялась на базе НОРЦН ФГБОУ ВО «Омский государственный технический университет» Минобрнауки России. В лаборатории подготовленные продольные распилы зубов заливались в эпоксидный компаунд. Полученный образец обрабатывался на станке MP-1B Grinder Polisher (TIME Group Inc., Китай) с помощью шлифовальных и полировальных кругов различной зернистости, финальное полирование осуществлялось с использованием войлочного круга и пасты ГОИ для пластмасс. После механической обработки шлифов проводилась очистка в ультразвуковой ванне в течение 2 минут, препарат высушивался с использованием целлюлозной салфетки до визуального исчезновения следов влаги, исследуемая поверхность протравливалась 37% ортофосфорной кислотой с окончательным промыванием под струей дистиллированной воды и высушиванием.

Методика подготовки образцов костной ткани альвеолярной части нижней челюсти для исследования. Для гистологического исследования фрагмент альвеолярной части нижней челюсти фиксировали в 10% формалине и 5% растворе трихлоруксусной кислоты. Использовали раствор трихлоруксусной кислоты как фиксатор и декальцинирующую жидкость, учитывали резкое набухание коллагеновых структур. Декальцинацию проводили 0,1 нормальным раствором соляной кислоты на физиологическом растворе. Проверку на готовность определяли, когда под воздействием пальцев фрагмент нижней челюсти легко гнулся. После декальцинации фрагмент нижней челюсти отмывали с окончательной нейтрализацией остаточной кислоты. Парафиновые срезы, приготовленные по стандартной методике, подвергали окраске гематоксилин-эозином.

Ультраструктуру твердых тканей исследовали с использованием растрового электронного микроскопа JEOL JCM-5700 (JEOL, Япония). В результате анализировали форму, поверхность, плотность упаковки, размер, расстояние между эмалевыми призмами зубов 38 или 48.

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных проводили методами непараметрической вариационной статистики (Mann-Whitney U test, Wilcoxon matched pairs test, Spearman rank R) с использованием стандартного пакета Statistica 12.0. Выбор ранговой

статистики, несмотря на близкое к нормальному распределение вариационных рядов (Shapiro-Wilk`s W test, $p \geq 0.05$), их симметрию, отсутствие выбросов и эксцессов был обусловлен небольшими группами сравнения. При множественном сравнении между сроками нулевая гипотеза отвергалась с учетом поправки Бонферони на уровне $p<0.02$. При парном сравнении пациентов с ДСТ и без таковой – на уровне $p<0.05$. В таблицах материал представлен как среднее±стандартное отклонение (M±m).

Результаты

В наших наблюдениях корневая система в группах с ДСТ и без ДСТ отличалась низким уровнем вариабельности в возрастах 31–40, 41–50, 51–60 лет. Количество корней не превышало двух (31–40 лет – 70,0%; 41–50 лет – 80,0%; 51–60 лет – 70,0%), сращения корней в указанных возрастах не наблюдалось. В группе с ДСТ в 31–40 лет в единичных наблюдениях наблюдали 3-корневые (менее 2,0%) и 4-корневые зубы (менее 2,0%) с извилистой аномальной формой строения, искривлениями, однако корреляционных связей мы не обнаружили по исследованным показателям ($r_s=0.5$, $p>0.05$). Морфометрические параметры корневой системы отражали достаточный уровень развития и сформированности исследованных зубов.

Оптическая плотность минерального компонента эмали исследуемых зубов по данным КТ-денситометрии показана в таблице 1. Она имела слабые и средние положительные корреляционные связи с возрастом пациентов. Увеличивалась в двух группах – (по показателю e1b: 31–40 лет: $r_s=0.48$, $p=0.03$; 41–50 лет: $r_s=0.49$, $p=0.03$; 51–60 лет: $r_s=0.63$, $p=0.02$; по показателю e2d: 31–40 лет: $r_s=0.68$, $p=0.02$; 41–50 лет: $r_s=0.68$, $p=0.02$; 51–60 лет: $r_s=0.52$, $p=0.03$). При ДСТ высокие ее значения в возрасте 31–40 лет относительно группы 41–50 лет), в возрасте 51–60 лет, в возрасте 41–50 лет значения снижены. В группе без ДСТ относительно подгруппы 31–40 лет минеральная плотность показывала высокие значения в возрасте 41–50 лет и в возрасте 51–60 лет. Возрастные показатели КТ-денситометрической плотности указывали на высокий уровень зрелости исследованных зубов в группе без ДСТ, при ДСТ уровень минеральной плотности снижен (Табл. 1).

При анализе КТ-денситометрии и «кривых» гистограмм в 95,0% случаев при ДСТ отмечено снижение оптической плотности костной ткани. Несмотря на высокую оптическую плотность в возрасте 31–40 лет при ДСТ в точках m1vl, после 40 лет происходило снижение минеральной плотности, где появлялись тотальные участки гипоминерализации.

В обеих группах угол наклона нижней челюсти в области зубов 38, 48 был более 90°, однако в группе с ДСТ он близок к прямому (в возрасте 31–40 лет ($p<0.01$, между группой с ДСТ без ДСТ); в возрасте 41–50 лет ($p<0.01$, между группой с ДСТ и без ДСТ), после 40 лет более тупой угол наклона (Табл. 1).

Таблица 1. Анализ денситометрической плотности (ед.) минерального компонента эмали зубов (эз) и нижней челюсти (нч) в различные периоды постнатального онтогенеза, M±m

Точки измерения	Возрастная группа, годы					
	31–40		41–50		51–60	
	без ДСТ n=8	с ДСТ n=25	без ДСТ n=9	с ДСТ n=25	без ДСТ n=9	с ДСТ n=26
e1b (эз)	827,4±20,2	655,1±21,4 *p*=0.0001*	884,4±24,2 *p*=0.0001^	611,4±18,8 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	908,1±25,1 *p*=0.000^	801,5±22,3 *p*=0.0001* *p*=0.0001^
e2d (эз)	880,0±22,1	698,5±25,6 *p*=0.0001*	902,4±17,3 *p*=0.03^	632,1±19,3 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	964,6±23,2 *p*=0.0001^	804,5±23,1 *p*=0.001* *p*=0.0001^
m1vl (нч)	478,3±18,8	405,0±24,2 *p*=0.0001*	445,7±21,5 *p*=0.004^	395,3±25,6 *p*=0.0001* *p*=0.17^	419,8±23,2 *p*=0.0001^	370,2±24,9 *p*=0.001* *p*=0.0001^
m2al (нч)	532,7±15,9	460,5±25,9 *p*=0.0001*	498,7±18,1 *p*=0.001^	447,6±25,3 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	491,1±19,9 *p*=0.001^	424,6±26,7 *p*=0.001* *p*=0.0001^
Ams (^{0})	138,5+3,3	99,2+3,8 *p*=0.0001*	139,9+3,8 *p*=1.0^	110,5+5,7 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	143,5+3,7 *p*=0.01^	115,7+4,9 *p*=0.001* *p*=0.001^
Amd (^{0})	137,1+3,1	102,3+3,6 *p*=0.0001*	137,8+3,5 *p*=1.0^	127,4+3,7 *p*=0.001*	146,0+4,2 *p*=0.0002^	132,6+4,1 *p*=0.001* *p*=0.0001^

Примечание: различия между подгруппой с ДСТ и без ДСТ (*), в сравнении с возрастной подгруппой 31–40 лет (^) статистически значимы (Mann-Whitney U test, Wilcoxon matched pairs test, с учетом поправки Бонферони при p<0.02)

В подгруппах 31–40 и 41–50 лет без ДСТ наличие шероховатостей и неровностей на эмалевых призмах не наблюдалось, в аналогичных возрастах при ДСТ шероховатость и неровность была минимальна (Рис. 1 А, Б, Г, Д). В подгруппе 51–60 лет в обеих группах рельефность эмалевых призм полностью отсутствовала. В обеих исследуемых группах мы не обнаружили разветвлений на множественные призмы и их слияние (Рис. 1 В, Е).

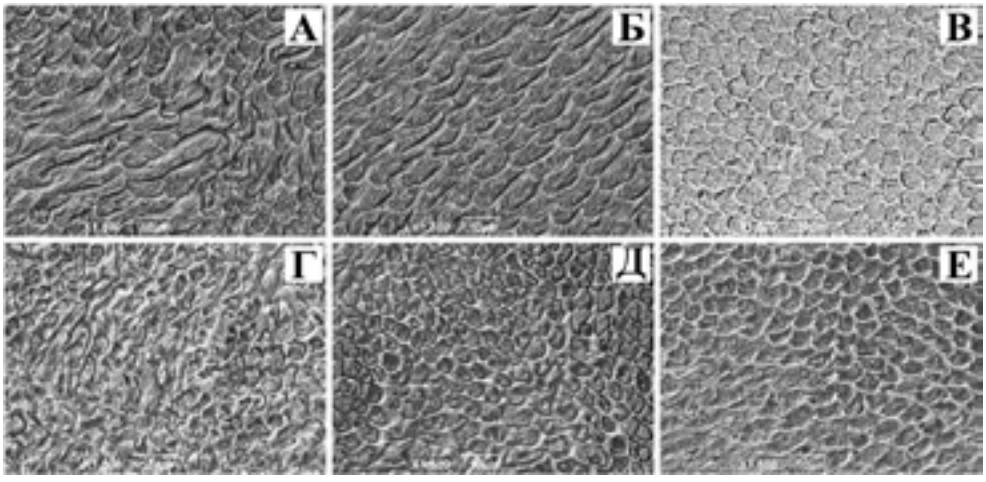


Рис. 1. Ориентация эмалевых призм (растровая электронная микроскопия). Ув. х 1500: А – в 31-40 лет без ДСТ, Б – в 41-50 лет без ДСТ, В – в 51-60 лет без ДСТ, Г – в 31-40 лет при ДСТ, Д – в 41-50 лет при ДСТ, Е – 51-60 лет при ДСТ

Максимальный пик минерального компонента приходился на 31–40 лет, в группе без ДСТ максимальный пик – на группу 51–60 лет. Эмаль зубов у пациентов в обеих группах содержит крупные эмалевые призмы. В группе с ДСТ чаще встречались эмалевые призмы мелкого размера уродливой формы и конфигурации, в группе без ДСТ мелкие призмы практически не визуализировались в поле зрения атомно-силового микроскопа. В группе с ДСТ встречалось большое количество органического матрикса и большие расстояния между эмалевыми призмами. В группе без ДСТ призмы были плотнее упакованы. Величина расстояния между эмалевыми призмами уменьшалась с возрастом, в группе с ДСТ до 40 лет, без ДСТ до 30 лет, в дальнейшем не изменялась. В подгруппах 31–40, 41–50 и 51–60 лет мы наблюдали наличие призматической оболочки в виде едва заметного ободка, прерывающегося на некоторых участках эмалевых призм в группе без ДСТ (Табл. 2).

Таблица 2. Размерные параметры минерального компонента и органического матрикса эмали зубов 38, 48 в различные периоды постнатального онтогенеза, M±m

Параметры	Возрастная группа, годы					
	31–40		41–50		51–60	
	без ДСТ n=8	с ДСТ n=25	без ДСТ n=9	с ДСТ n=25	без ДСТ n=9	с ДСТ n=26
Длина эмалевых призм, мкм	5,58±0,22	4,26±0,24 *p*=0.0001*	6,01±0,26 *p*=0.98^	3,82±0,21 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	6,23±0,14 *p*=0.001^	3,96±0,27 *p*=0.0001* *p*=0.001^
Ширина эмалевых призм, мкм	4,76±0,25	4,01±0,21 *p*=0.0001*	5,12±0,11 *p*=0.001^	3,12±0,18 *p*=0.0001* *p*=0.0001^	5,21±0,27 *p*=0.0002^	5,28±0,24 *p*=0.49* *p*=0.0001^
Расстояние между эмалевыми призмами, мкм	0,53±0,03	3,24±0,46 *p*=0.0001*	0,37±0,04 *p*=0.001^	3,33±0,12 *p*=0.0001* *p*=0.34^	0,32±0,01 *p*=0.0001^	3,55±0,22 *p*=0.0001* *p*=0.003^
Величина призматической оболочки, мкм	менее 1,0	менее 1,0 *p*=0.98*	менее 1,0 *p*=0.98^	менее 1,0 *p*=0.98* *p*=0.98^	менее 1,0 *p*=0.98^	менее 1,0 *p*=0.98* *p*=0.003^
Величина межпризменного промежутка, мкм	2,09±0,28	3,05±0,52 *p*=0.0001*	2,06±0,21 *p*=0.74^	3,14±0,47 *p*=0.0001* *p*=0.52^	1,98±0,17 *p*=0.36^	2,74±0,65 *p*=0.003* *p*=0.07^

Примечание: различия между подгруппой с ДСТ и без ДСТ (*), в сравнении с возрастной подгруппой 31–40 лет (^) статистически значимы (Mann-Whitney U test, Wilcoxon matched pairs test, с учетом поправки Бонферони при p<0.02)

При гистологическом исследовании костной ткани в возрастах 41–50, 51–60 лет на границе соединительнотканных структур и надкостницы наблюдался выраженный склероз и деформация разграничительных элементов, в возрасте 31–40 лет указанные изменения выражены умеренно, в собственно надкостнице и компактном слое нижней челюсти встречались изменения структур костных элементов: в возрасте 31–40 лет гаверсовы каналы расширены (Рис. 2 А, Б), в них наблюдалась выраженная извитость и мультипликация сосудов. В возрастах 41–50, 51–60 лет гаверсовы каналы сужались (Рис. 2 В), а извитость и мультипликация сосудов носила менее

выраженный характер. В отдельных участках в собственно костной ткани у всех обследованных преобладали остеобласты, отмечена выраженная вакуолизация остеоцитов. Указанные изменения свидетельствовали о равновесии деструктивных и регенеративных процессов костной ткани в проекции непрорезавшихся зубов 38, 48.

При исследовании компактного и губчатого вещества нижней челюсти показано, что в структуре кости начинались постепенные изменения, что связано с дистрофическим перерождением костной структуры компактного и губчатого вещества, с очаговым истончением в возрасте 31–40 лет, и тотальным истончением в возрастах 41–50 и 51–60 лет, спонгиозирование компактных пластинок наблюдалось во всех возрастах (Рис. 2 Г, Д, Е). С прогрессированием остеопороза возникали многочисленные крупные костномозговые пространства, которые ярко представлены в возрасте 51–60 лет (Рис. 2 Е). С увеличением возраста костные пластинки по структуре становились похожи на губчатое вещество.

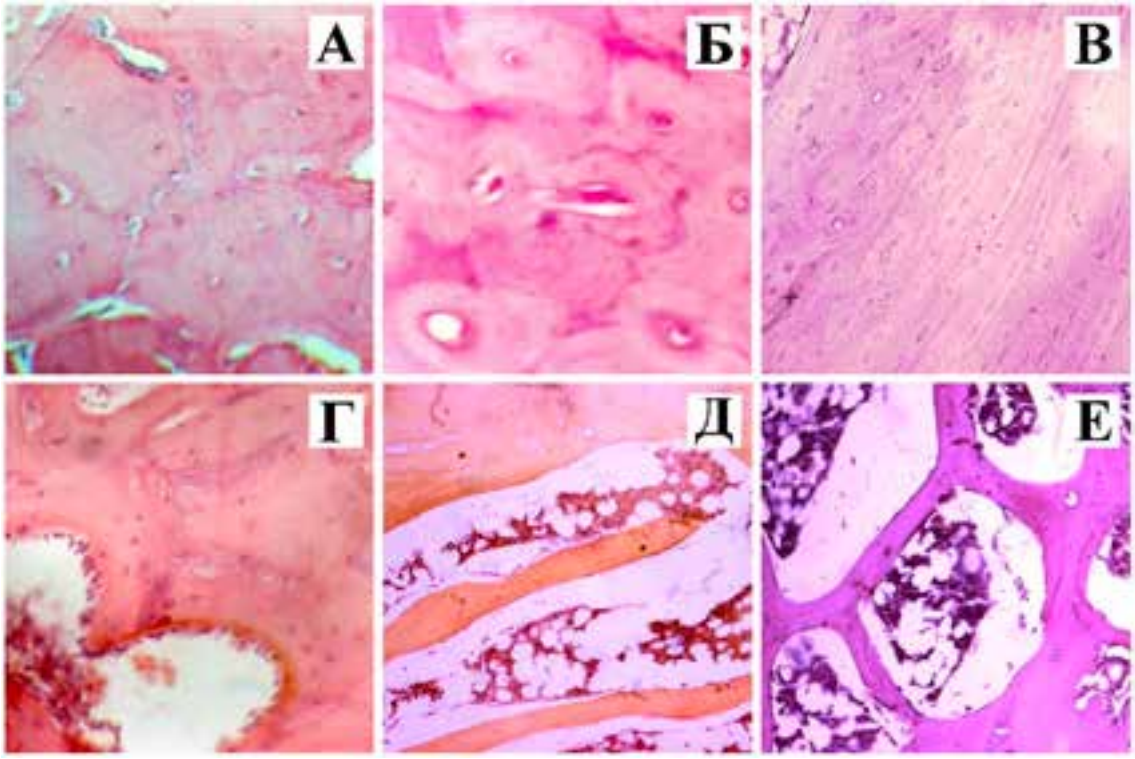


Рис. 2. Характеристика костной ткани альвеолярной части нижней челюсти при дисплазии соединительной ткани в различные периоды постнатального онтогенеза человека. Окраска гематоксилин-эозин. А - замурованные остеоциты и расширение гаверсовых каналов в 31-40 лет. Ув. х 185; Б - расширение гаверсовых каналов в 31-40 лет. Ув. х 160; В - увеличение числа гаверсовых каналов в компактном слое в 51-60 лет. Ув. х 185; Г - неправильное формирование остеонов в компактном слое в 41-50 лет. Ув. х 185; Д - строение губчатого вещества с истончением кортикального слоя в 41-50 лет. Ув. х 160; Е - строение губчатого вещества с истончением кортикального слоя в 51-60 лет. Ув. х 160

Установлено, что основу костного матрикса обследованных лиц составляли коллагеновые фибриллы. В пластинчатой костной ткани в зоне обследования коллагеновые волокна имели недостаточно ориентированное направление. Во всех возрастах мы наблюдали множественное

расслоение пластинок, что нарушало единство и гармонию волокнистого строения всей костной ткани. В возрасте 31–40 лет расслоение пластинок наблюдалось на уровне единичных фибрилл, уровень расслоения пластинок носил незначительный характер. После 40 лет расслоение пластинок имело множественный характер и захватывало уровень большинства фибрилл. Указанные морфологические изменения костной ткани в области зубов 38, 48 являлись, вероятно, барьером для правильного и гармоничного их прорезывания.

Во всех обследованных группах преобладали прямые костные балки. В возрасте 31–40 лет балки с неправильными формами и хаотичным расположением костных пластинок встречались только в нижней зоне, после 40 лет на всем протяжении. Следствием этого являлось наличие большого количества пустот, что влекло за собой изменения залегания минеральных элементов кости и формирования костных пластинок, уменьшение количества минерального компонента в единице объема кости. Все это приводило к тому, что после 30 лет выявлялись морфологические признаки выраженной стертости зональности костных структур в собственно надкостнице и компактном слое, костные балки становились деформированными, неровными, истонченными.

Во всех обследованных группах в толще костных балок увеличивались очаги базофильного окрашивания, вероятно, за счет неравномерного распределения кальция и хондроматозного перерождения, а в костной ткани преобладали атрофические деструктивные изменения. Компактные костные пластинки неравномерно обызвествлены, в краевых зонах более слабо. Встречались балочки с наслоением остеоида и участки, заполненные рыхловолокнистой тканью, иногда с очагами миксоматозного характера. Появление участков миксоматозного характера и наличие пустот в виде очагов просветления закономерно приводило к нарушению процессов минерализации костной ткани с увеличением плотности только в верхушечной части на фоне общего снижения минерализации.

Заключение

Морфометрические параметры коронковой и корневой систем зубов 38, 48 указывают на достаточный уровень их сформированности. Исследование ультраструктуры минерального компонента эмали зубов и нижней челюсти методом растровой электронной микроскопии указывает на выраженный возрастной диморфизм их структуры, в нижней челюсти на прогрессирование склеротических и дегенеративных изменений, с деформацией и расслоением костных пластинок на уровне большинства фибрилл, характерные для остеопороза. Изученные изменения при дисплазии соединительной ткани в зубах 38, 48 и костной ткани характеризуются недостаточными темпами созревания плотных тканей челюстно-лицевой области, наличием гипоминерализованных участков. Неблагоприятные морфофункциональные условия снижают вероятность прорезывания зубов 38, 48 после 30 лет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорович, Э.Ш. Особенности стоматологического статуса взрослых и детей, ассоциированные с различными соматическими заболеваниями на фоне дисплазии соединительной ткани / Э.Ш. Григорович, Р.В. Полякова, В.И. Самохина // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2018. – Т. 65. – № 2. – С. 32-37.
2. Орехова, Л.Ю. Дисплазия соединительной ткани как общемедицинская и стоматологическая проблема / Л.Ю. Орехова, Л.П. Чурилов, Ю.И. Строев, А.А. Александрова // Пародонтология. – 2010. – Т. 54. – № 1. – С. 8-14.
3. Сесорова, И.С. Дисплазия соединительной ткани как фактор риска развития зубочелюстных аномалий / И.С. Сесорова, Е.В. Шниткова, Т.В. Лазоренко, М.А. Здорикова, А.А. Подосенкова // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 182.
4. Кравцов, Ю.А. Клинические примеры дисплазии соединительной ткани у пациентов разного возраста с хирургической патологией / Ю.А. Кравцов, М.В. Яворская // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 5. – С. 49-57.
5. Вагнер, В.Д. Сравнительная оценка скорости и качества созревания минерального компонента эмали зубов человека при дисплазии соединительной ткани в позднем постнатальном периоде онтогенеза / В.Д. Вагнер, В.П. Конев, А.С. Коршунов, К.Н. Курятников, А.П. Скурихина, А.А. Бондарь // Институт стоматологии. – 2020. – Т. 89. – № 4. – С. 72-73.
6. Вагнер, В.Д. Исследование структуры минерального компонента эмали зубов при дисплазии соединительной ткани методами денситометрии и атомно-силовой микроскопии в позднем постнатальном периоде онтогенеза / В.Д. Вагнер, В.П. Конев, А.С. Коршунов, К.Н. Курятников, А.П. Скурихина, А.А. Бондарь // Клиническая стоматология. – 2020. – Т. 96. – № 4. – С. 19-24.
7. Конев, В.П. Исследование минерального компонента и органического матрикса костной ткани с использованием методов атомно-силовой микроскопии / В.П. Конев, С.Н. Московский, И.Л. Шестель, Ю.О. Шишкина, А.С. Коршунов // Судебная медицина. – 2018. – Т. 4. – № 1. – С. 22-25.
8. Shen, L. Deformation behavior of normal human enamel: A study by nanoindentation / L. Shen, F. Barbosa de Sousa, N. Tay, T.S. Lang, V.L. Kaixin, J. Han, L. Kilpatrick-Liverman, W. Wang, S. Lavender, S. Pilch, H.Y. Gan // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. – 2020. – № 108. – P. 103799.
9. Poggio, C. Atomic force microscopy study of enamel remineralization / C. Poggio, M. Ceci, R. Beltrami, M. Lombardini, M. Colombo // Annals of Stomatology (Roma). – 2014. – Vol. 5. – № 3. – P. 98-102.

10. Jheon, A.H. From molecules to mastication: the development and evolution of teeth / A.H. Jheon, K. Seidel, B. Biehs, O.D. Klein // Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 2. – № 2. – P. 165-182.
11. Huang, X.F. Molecular regulatory mechanism of tooth root development / X.F. Huang, Y. Chai // International Journal of Oral Science. – 2012. – Vol. 4. – № 4. – P. 177-181.
12. Koldehoff, J. The geometrical structure of interfaces in dental enamel: A FIB-STEM investigation / J. Koldehoff, M.V. Swain, G.A. Schneider // Acta Biomaterialia. – 2020. – № 104. – P. 17-27.
13. Beniash, E. The hidden structure of human enamel / E. Beniash, C.A. Stifler, C.Y. Sun, G.S. Jung, Z. Qin, M.J. Buehler, P.U.P.A. Gilbert // Nature Communications. – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 4383.
14. Nurbaeva, M.K. Ca2+ transport and signalling in enamel cells / M.K. Nurbaeva, M. Eckstein, S. Feske, R.S. Lacruz // The Journal of Physiology. – 2017. – Vol. 595. – № 10. – P. 3015-3039.
15. Dean, M.C. Variation in the timing of enamel formation in modern human deciduous canines / M.C. Dean, L. Humphrey, A. Groom, B. Hassett // Archives of Oral Biology. – 2020. – № 114. – P. 104719.
16. Pandya, M. Enamel biomimetics-fiction or future of dentistry / M. Pandya, T.G.H. Diekwisch // International Journal of Oral Science. – 2019. – Vol. 11. – № 1. – P. 8.
17. Hogg, R.T. Application of Image Compression Ratio Analysis as a Method for Quantifying Complexity of Dental Enamel Microstructure / R.T. Hogg, C. Richardson // Anatomical Record (Hoboken). – 2019. – Vol. 302. – № 12. – P. 2279-2286.
18. Carreon, A.H. Nanoscale properties and deformation of human enamel and dentin / A.H. Carreon, P.D. Funkenbusch // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. – 2019. – № 97. – P. 74-84.
19. Постолаки А.И. Морфодинамическая модель механизма прорезывания зубов у человека / А.И. Постолаки // Национальная ассоциация ученых. – 2015. – Т. 16. – № 11-1. – С. 164-168.

РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПРОГРЕССИИ РЯ

С.С. Лукина[1*], А.М. Бурдённый[1], В.И. Логинов[1,2], Э.А. Брага[1,2]

[1]Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, 125315 Россия

[2]Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, 115478 Россия

*sveta_sergeevna349@mail.ru

Аннотация

***Актуальность*:** Рак яичников (РЯ) относится к числу наиболее агрессивных опухолей у женщин, характеризующихся быстрым прогрессированием и высоким риском метастазирования, что приводит к неблагоприятному прогнозу. В молекулярных механизмах развития этого заболевания важную роль может играть аберрантное метилирование генов длинных некодирующих РНК (днРНК), которые вовлечены в регуляцию многих системных процессов, что имеет большое значение для диагностики и прогнозирования течения рака яичников.

***Цель исследования*:** изучить гены днРНК, экспрессия которых регулируется метилированием в опухолях больных РЯ, и оценить возможную связь аберрантного метилирования этих генов днРНК с прогрессией и метастазированием РЯ.

***Методы*:** Образцы опухолей РЯ собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ РОНЦ имени Н.Н. Блохина. Высокомолекулярную ДНК и РНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровня метилирования и экспрессии днРНК *GAS5, HOTAIR* и *SNHG6* проводился с использованием ПЦР в реальном времени и готовой реакционной смесью qPCRmix-HS SYBR («Евроген»). Статистический анализ уровней метилирования и экспрессии выполнен в программной среде R с применением непараметрического U теста Манна-Уитни. Корреляционный анализ выполняли с использованием метода ранговой корреляции Спирмена и рассчитывали уровень его значимости. Различия считали достоверными при $p<0.05$.

***Результаты*:** в результате анализа уровня метилирования трёх генов днРНК (*GAS5*, *HOTAIR* и *SNHG6*) в образцах первичных опухолей яичников по сравнению с гистологически неизменёнными тканями выявлено статистически значимое повышение метилирования для всех трёх генов. При утяжелении клинической картины заболевания наблюдалось дополнительное увеличение уровня метилирования генов *GAS5* и *SNHG6*. Также повышенное метилирование этих двух генов обнаружено в опухолях с наличием различных типов метастазов. Анализ уровня экспрессии показал значимое снижение экспрессии генов HOTAIR и SNHG6 в опухолях. Выявлена отрицательная корреляция между метилированием и экспрессией гена *SNHG6* ($p<0.05$).

***Заключение*:** Наши результаты способствуют лучшему пониманию молекулярных

механизмов патогенеза рака яичников и могут найти применение для улучшения диагностики заболевания, прогнозирования его течения и разработки персонализированных подходов к терапии.

Ключевые слова: рак яичников, длинные некодирующие РНК, промоторные участки, метилирование, экспрессия.

Review

Relevance: Ovarian cancer (OC) is one of the most aggressive tumors in women, characterized by rapid progression and a high risk of metastasis, which leads to an unfavorable prognosis. Aberrant methylation of long non-coding RNA (lncRNA) genes, which are involved in the regulation of many systemic processes, can play an important role in the molecular mechanisms of the development of this disease, which is extremely important for the diagnosis and prediction of ovarian cancer.

The aim of the study was to study the lncRNA genes, which expression is regulated by methylation in tumors of patients with OC, and to assess the possible association of these lncRNA genes aberrant methylation with the OC progression and metastasis.

Methods: Breast cancer samples were collected and clinically characterized by the National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin. High molecular weight DNA and RNA were isolated from the tissue by the standard method. The level of methylation and expression of lncRNA GAS5, HOTAIR and SNHG6 was analyzed using real-time PCR and a ready-made reaction kit qPCRmix-HS SYBR by "Eurogen". Statistical analysis for methylation and expression levels changes was performed in the R software environment using the nonparametric U Mann-Whitney test. The correlation analysis was performed using Spearman's rank correlation method and the level of its significance was calculated. The differences were considered to be significant at $p<0.05$.

Results: as a result of the methylation level analysis of three lncRNAs (GAS5, HOTAIR and SNHG6) genes in primary ovarian tumors samples compared with histologically unchanged tissues, a statistically significant increase in methylation was revealed for all three genes. An additional increase in the GAS5 and SNHG6 genes methylation level was observed when clinical stage became more malignant. Also, increased methylation of these two genes was found in tumors with the presence of various types of metastases. The analysis of the expression level showed a significant decrease in the expression of the HOTAIR and SNHG6 genes in tumors. A negative correlation was found between methylation and expression of the SNHG6 gene ($p<0.05$).

Conclusion: Our results contribute to a better understanding of the molecular mechanisms of ovarian cancer pathogenesis and can be used to improve the diagnosis of the disease, predict its course and develop personalized approaches to therapy.

Keywords: ovarian cancer, long non-coding RNAs, promoter sites, methylation, expression.

Актуальность. Рак яичников (РЯ) относится к числу наиболее агрессивных и поздно диагностируемых опухолей у женщин, что приводит к неблагоприятному прогнозу. Симптомы часто не проявляются вплоть до поздних стадий, когда развивается обширное метастазирование и резистентность к терапии. Изучение молекулярных механизмов, участвующих в патогенезе этого заболевания, важно для разработки диагностики и прогноза.

В развитии и прогрессии рака яичников важную роль играют длинные некодирующие РНК (днРНК). Они вовлечены в регуляцию экспрессии генов, хроматина, сплайсинга и сигнальных путей. ДнРНК в клетке могут действовать как онкогены или как гены-супрессоры опухолей. Их аберрантная экспрессия наблюдается при многих видах рака, включая рак яичников.

К важным эпигенетическим механизмам, нарушенным при РЯ, относится метилирование CpG островков в промоторах генов днРНК и супрессорных генов. Это приводит к снижению их экспрессии и усилению онкогенных сигнальных путей.

Цель исследования: изучить гены днРНК, экспрессия которых регулируется метилированием в опухолях больных РЯ, и оценить возможную связь аберрантного метилирования этих генов днРНК с прогрессией и метастазированием РЯ.

Материалы и методы

Для анализа уровня метилирования и экспрессии генов днРНК использовали 119 парных образцов опухолевой и условно нормальной ткани яичника от больных РЯ, проходивших обследование и лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Все опухоли были классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации ВОЗ [1]. Диагноз поставлен на основании гистологического заключения.

В исследование брали образцы тканей РЯ больных, которые до операции не получали лучевую, химио- или гормонотерапию. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [2]. Для отбора образцов с высоким содержанием опухолевых клеток (не менее 70%) проводили дополнительный гистологический анализ микросрезов (3-5 мкм), окрашенных гематоксилином и эозином. Образцы тканей хранили при -70^{0}С. Замороженную в жидком азоте ткань измельчали с помощью гомогенизатора-диспергатора TissueRuptor II (QIAGEN, Германия).

Высокомолекулярную ДНК выделяли по стандартной методике фенол-хлороформной экстракции. Высокомолекулярную РНК из парных образцов тканей РЯ (опухоль/ прилежащая гистологически нормальная ткань яичников) выделяли с помощью реагента ExtractRNA #BC032 (Евроген, Россия). Качество и концентрацию РНК определяли по оптической плотности на

спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientifi, США). Перед использованием все образцы РНК обрабатывали ДНКазой, свободной от РНКазы. Обратную транскрипцию тотальной РНК проводили с помощью набора реактивов MMLV RT kit # SK021 (Евроген, Россия). Анализ уровня метилирования генов днРНК проводили с применением бисульфитной конверсии ДНК. Амплификацию проводили в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad, США) с использованием готовых наборов qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) с детекцией в реальном времени. Проводили количественную оценку полученных результатов. Данные по экспрессии анализировали с использованием относительной количественной оценки по методу ΔΔCt. Изменения уровня днРНК менее чем в 2 раза ($|\Delta\Delta Ct| \leq 2$) рассматривали как отсутствие изменений. Проводили три повторных ПЦР-анализа.

Данные по метилированию анализировали с помощью количественной метил-специфичной ПЦР (МС-ПЦР). Полноту конверсии ДНК определяли с помощью контрольного локуса *ACTB* с использованием олигонуклеотидов специфичных к неконвертированной матрице [3]. Для сравнительного анализа эффективности амплификации также применялся локус *ACTB* с использованием олигонуклеотидов, специфичных к конвертированной матрице [3]. В качестве контролей для неметилированных аллелей использовали коммерческий препарат ДНК #G1471 (“Promega”, США). В качестве позитивного контроля 100%-ого метилирования использовали коммерческий препарат ДНК #SD1131 (“Thermo Fisher Scientific”).

Статистический анализ уровней экспрессии выполнен в программной среде R 4.2.1. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический U тест Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали значимыми при $p<0.05$. Данные выражали в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Корреляционный анализ выполняли с использованием метода ранговой корреляции Спирмена и рассчитывали уровень его значимости. Различия считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты

По результатам МС-ПЦР проведён анализ уровня метилирования 3 генов днРНК (*GAS5, HOTAIR, SNHG6*) в 119 образцах первичных опухолей и 119 образцах парной гистологически неизмененной ткани с применением непараметрического критерия Манна-Уитни Статистически значимое ($p<0.05$) повышение уровня метилирования наблюдается для всех 3 исследованных генов днРНК (рис. 1).

На более тяжелых клинических стадиях (III-IV) в сравнении с менее тяжелыми стадиями (I-II), в образцах с большей распространённостью первичной опухоли и в образцах с низкой степенью дифференцировки (G_3) относительно уровня метилирования в образцах с более высокой степенью (G_1, G_2) наблюдается дальнейшее статистически значимое (в 2-4 раза, $p<0.05$) повышение уровня метилирования 2 генов днРНК (кроме *HOTAIR*), что показано на рис. 2. Связи

гиперметилирования с гистологическим типом РЯ выявлено не было в связи с преобладанием серозного РЯ.

Так как РЯ активно метастазирующая опухоль, для этого вида онкологии характерно развитие не только лимфогенных и отдаленных метастазов, но и особый тип метастазирования: диссеминация по брюшине [4]. В образцах опухолей, для которых имеются данные о наличии диссеминации по брюшине и в группе больных РЯ с наличием метастазов в большой сальник, было обнаружено статистически значимое ($p<0.01$, $FDR=0.1$) увеличение уровня метилирования для генов *GAS5* и *SNHG6* (рис. 3А, 3Б). При анализе больных с наличием или отсутствием лимфогенных и отдалённых метастазов (N_0M_0 против N_xM_x) выявлено значимое ($p<0.05$, $FDR=0.1$) увеличение уровня метилирования для гена *SNHG6*. При сравнении тканей опухоли больных без метастазов с тканями опухолей больных, для которых показано наличие разных типов метастазирования, определены 2 гена днРНК (*GAS5* и *SNHG6*), уровень метилирования которых значимо выше в группе больных, для которых метастазирование отмечено (рис. 3В, 3Г).

Исследовано изменение уровня экспрессии для генов днРНК *GAS5, HOTAIR*, *SNHG6* в образцах РЯ относительно условной нормы. Исследование выполнено на общей выборке из 18-53 образцов РЯ, использованных также в анализе аберрантного метилирования (рис. 4). Показано статистически значимое ($p<0.01$, $FDR=0.1$) снижение уровня экспрессии в опухолевой ткани для днРНК HOTAIR и SNHG6 (рис. 4), что согласуется с данными о гиперметилировании их генов. Полученные данные не отрицают возможность вовлеченности метилирования в дерегуляцию экспрессии гена *GAS5.*

При сопоставлении результатов изменения уровня экспрессии с учетом клинико-морфологических параметров опухоли не выявлено значимых изменений. Однако при анализе образцов от больных с диссеминацией по брюшине было обнаружено, что единственной днРНК, значимо снижающей уровень экспрессии, оказалась HOTAIR.

Сопоставление результатов по изменениям уровней метилирования и экспрессии для этих 3 днРНК показало статистически значимую корреляцию только для гена *SNHG6* (r_s = -0.77, p<0.000006), исследованного на большей выборке образцов (рис. 5).

Таким образом, влияние метилирования на снижение экспрессии наиболее убедительно показано только для гена *SNHG6.*

Заключение

Полученные в настоящем исследовании результаты расширяют представления о роли длинных некодирующих РНК в онкогенезе. В частности, продемонстрирована важная роль влияния метилирования на снижение экспрессии этих днРНК в развитии и прогрессировании рака яичников. Дальнейшее изучение механизмов регуляции данных днРНК и их взаимодействий с другими молекулами, участвующими в онкогенезе, несомненно, прольет свет на сложную

биологию рака яичников. Кроме того, исследованные в работе днРНК могут найти применение для разработки персонифицированных подходов к диагностике, прогнозированию течения болезни и терапии больных раком яичников.

Работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (грант РНФ №20-15-00368П).

ЛИТЕРАТУРА

1. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. TNM Classification of Malignant Tumours. 8th ed. John Wiley & Sons; 2017. 241 p.
2. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA. 2013 Nov 27;310(20):2191-4. doi: 10.1001/jama.2013.281053
3. Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Иванова Н.А. и др. Гиперметилирование генов новых длинных некодирующих рнк в опухолях яичников и метастазах: двойственный эффект // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. 2021. Т. 171. № 3. С. 370-374. doi: 10.1007/s10517-021-05230-3. (Burdennyy AM, Filippova EA, Ivanova NA et al. Hypermethylation of Genes in New Long Noncoding RNA in Ovarian Tumors and Metastases: A Dual Effect // Bull. Exp. Biol. Med. 2021. V. 171. . № 3. P. 370-374. doi: 10.1007/s10517-021-05230-3.)
4. Barbolina M.V. Molecular Mechanisms Regulating Organ-Specific Metastases in Epithelial Ovarian Carcinoma // Cancers (Basel). 2018. Vol. 10, No 11. P. 444. DOI: 10.3390/cancers10110444

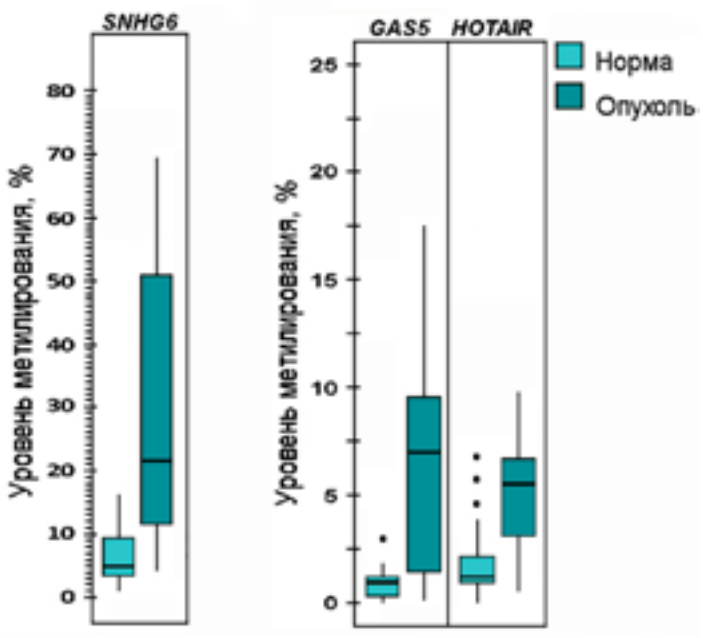


Рисунок 1. Профили метилирования генов днРНК *GAS5, HOTAIR, SNHG6* в образцах РЯ. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна–Уитни. $p<0.05$

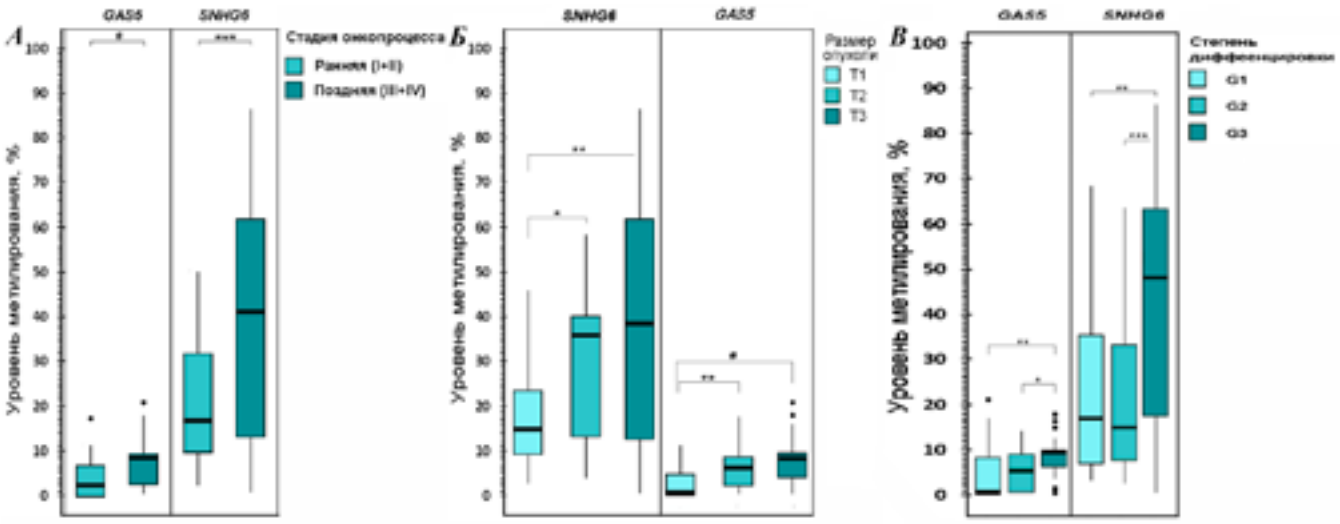


Рисунок 2. Связь уровня метилирования генов днРНК *GAS5, HOTAIR, SNHG6* со стадией онкологического процесса (А); размером опухоли (Б); и степенью дифференцировки (В) при РЯ. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна–Уитни. $p<0.05$

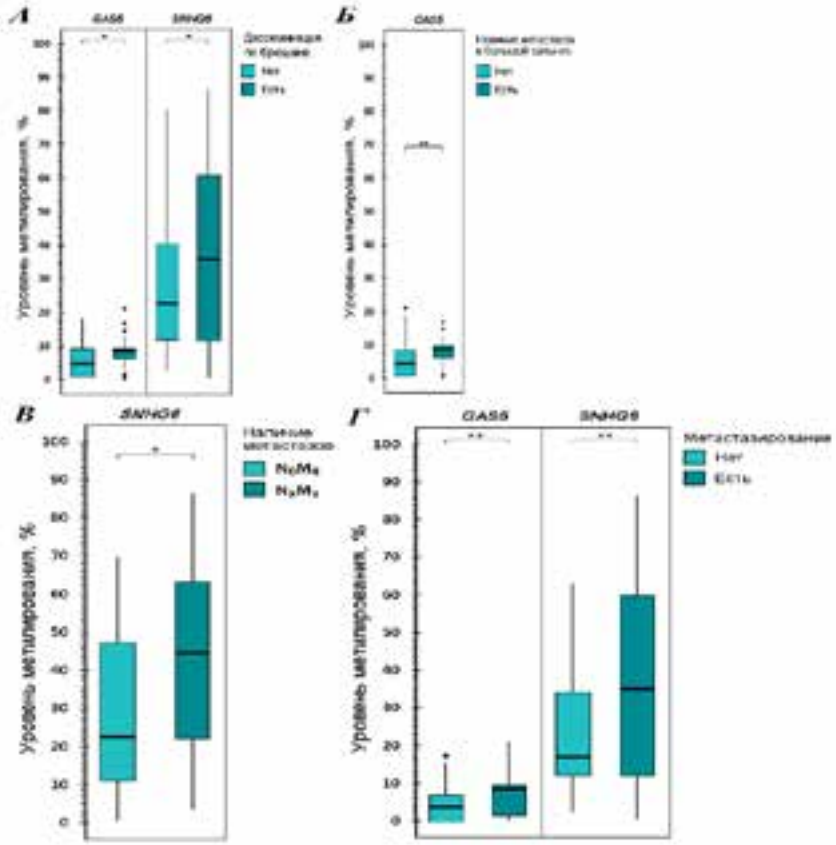


Рисунок 3. Сравнение уровня метилирования генов днРНК в группах с различными типами метастазирования: диссеминация по брюшине (А); метастазирование в большой сальник (Б); лимфогенные и/или отдалённые метастазы (N0M0 против NxMx) (В), метастазирование всех типов (Г). Примечание: * $p<0.05$; ** $p<0.01$.

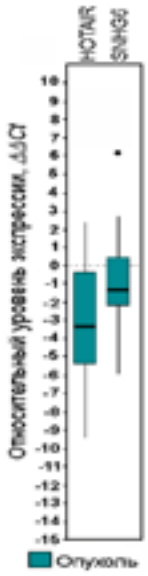


Рисунок 4. Диаграммы размахов значений уровня экспрессии генов днРНК *HOTAIR, SNHG6* в опухолевой ткани. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна–Уитни. $p<0.01$

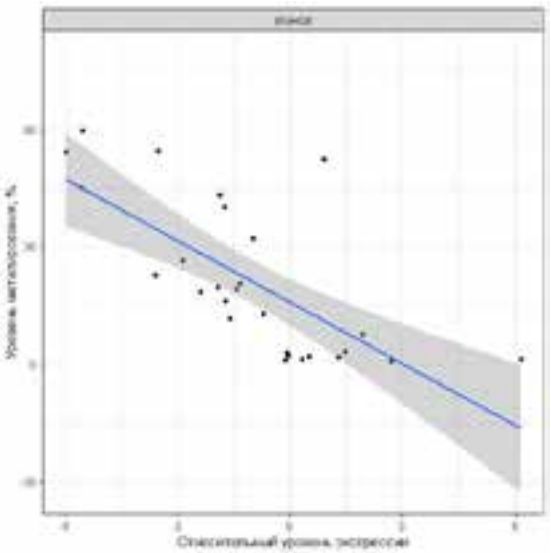


Рисунок 5. Корреляция между изменением статуса метилирования промоторных CpG-островков и уровнем их экспрессии на примере SNHG6.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПРИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ФОНЕ РАЗНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЭССЕНЦИАЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Н.С. Никитин

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

Актуальность

Изучение структуры внутренних органов является необходимым пунктом в стандартном протоколе токсикологических исследований. В настоящее время изучение малотоксичных объектов, к которым можно отнести, например, пищевую продукцию нового вида, генно-инженерно-модифицированную продукцию, представляет собой одно из важных направлений токсикологии. Как правило, прямого выраженного влияния таких объектов выявить не удается, поэтому одним из дополнительных подходов являются так называемые «нагрузочные» пробы, направленно снижающие адаптационный потенциал подопытных животных. В рамках совершенствования методологии токсикологических исследований была разработана алиментарная модель *in vivo*, обеспечивающая снижение адаптационного потенциала крыс и предназначенная для использования в токсикологических исследованиях при изучении объектов с неизвестной токсичностью, позволяющая повысить чувствительность лабораторных животных к токсической нагрузке, когда эффект от воздействия потенциального токсиканта будет максимально проявлен [1-5].

Важным этапом исследований по формированию модели снижения адаптационного потенциала являлось установление границ нормы для целого ряда изучаемых параметров, в частности размеров структурных элементов внутренних органов, поскольку в условиях дефицита эссенциальных веществ эти границы могут быть смещены [6].

Целью работы являлось изучение морфологических и морфометрических особенностей печени под влиянием сниженного поступления витаминов и минеральных веществ с рационом в сочетании с токсическими воздействиями различной природы в период роста и полового созревания крыс самцов линии Вистар.

Научная новизна работы. Установлено, что выраженность изменений морфологических показателей зависит от уровня снижения эссенциальных веществ в рационе. Впервые с помощью гистологических и морфометрических методов получены данные об изменении размеров структурных элементов печени лабораторных животных в условиях снижающейся обеспеченности витаминами группы В и солями Fe^{3+} и Mg^{2+}, а также при токсическом воздействии солями кадмия и CCl_4 на фоне данной модели.

Практическая значимость. Результаты исследований дополняют существующие знания о морфологии печени на фоне дефицитов некоторых алиментарных факторов. Полученные данные интегрированы в методологию анализа результатов морфологических исследований, проводимых на модели снижения адаптационного потенциала, в том числе, при оценке безопасности пищевой продукции нового вида.

Материалы и методы

Были проанализированы данные от 140 животных из 4-х модельных экспериментов, получавших полусинтетический казеиновый рацион (ПКР) с разной обеспеченностью эссенциальными веществами – витаминами группы B_1, B_2, B_3, B_6 и минеральными веществами Fe^{3+} и Mg^{2+} (рис. 1), а также данные от 180 животных из 2-х экспериментов с моделированной токсической нагрузкой солями кадмия Cd^{2+} [2], четыреххлористым углеродом [5]. Дизайн экспериментов с токсикантами представлен в табл. 1.

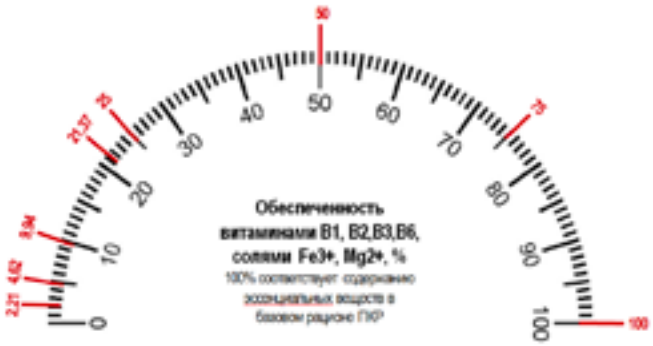


Рисунок 1. Используемые дозировки эссенциальных веществ в рационах

Таблица 1. Дизайн экспериментов с токсикантами

Модификация рациона		Группа	Токсическое воздействие: Cd^{2+} или CCl_4 или глифосат	Обследовано животных морфологическим методом
Снижение содержания витаминов B_1, B_2, B_3 и B_6, солей Fe^{3+} и Mg^{2+} в рационе, % от базового уровня в рационе	75%	Контроль-75	-	30
		Опыт-75	75+Cd 75+CCl_4	10 10
	30%	Контроль-30	-	20
		Опыт-30	30+Cd 30+CCl_4	10 10
	19%	Контроль-19	-	20
		Опыт-19	19+Cd 19+CCl_4	10 10

Все данные получены от крыс одного возраста (~95 дней), длительность экспериментов составляла ~65 дней. Для анализа использовали данные о массе тела крыс на день отбора материала, абсолютной и относительной массе печени, диаметре ядра, диаметре гепатоцита, размере цитоплазмы в центральной и периферической зонах печеночной дольки.

Материалом для морфометрических исследований явились ткани печени из левой боковой доли, окрашенные гематоксилином и эозином. Приготовление и окрашивание гистологических препаратов проводили по стандартной схеме [7]. Гистологические препараты изучали в световом микроскопе Axio Imager Z1 (Carl Zeiss, ФРГ), для фотосъемки использовали цифровую фотокамеру AxioCam HRc (Carl Zeiss, ФРГ), морфометрию проводили с помощью программного обеспечения AxioVision Rel.4.8 (Carl Zeiss, ФРГ) с применением калибровочного слайда X/Y (Микромед, цена деления шкалы – 0,01 мм).

С каждого микропрепарата анализировали не менее 20 клеток центральной и периферической зоны дольки от каждого животного, всего было проанализировано по 200 клеток в каждой группе. На гистологических препаратах печени при увеличении ×400 определяли диаметр ядер гепатоцитов и диаметр всей клетки, размер цитоплазмы рассчитывали по формуле:

$$\text{Цитоплазма} = D_{\text{клетки}} - D_{\text{ядра}}$$

где D – диаметр в мкм.

Полученные данные представлены в виде M±m, где M – среднее арифметическое измеряемого показателя, m – стандартная ошибка. Статистическую обработку проводили, используя программы Microsoft Excel 2013 и IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США). Были применены параметрические методы статистики при условии соблюдения нормальности распределения и равенства дисперсий – сравнение средних с помощью t-критерия для независимых выборок, критический уровень значимости (p) принимали равным 0,05. В соответствии со структурой исследования все количественные признаки групп, получавших рационы с обеспеченностью эссенциальными веществами в диапазоне от 75 до 2%, сравнивали с группой, получавшей полноценный рацион (100%).

Результаты и обсуждение

На основании анализа полученных гравиметрических, гематологических, биохимических, морфологических данных группы животных были объединены в 4 диапазона по содержанию эссенциальных веществ – 100%+75%+50%, 30%+25%+21%, 19%+9% и 4%+2%, внутри которых были отмечены незначительные различия изучаемых показателей и не было выявлено явных закономерностей изменения оцениваемых параметров в зависимости от уровней содержания витаминов и минеральных веществ в рационе. В качестве эталонного стандарта использовали значения соответствующих показателей, полученные от крыс, содержавшихся на рационе со 100%-ной обеспеченностью всеми пищевыми веществами.

Общее состояние крыс групп с обеспеченностью эссенциальными веществами в диапазоне 100%-9% было удовлетворительным, по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению разницы между группами отмечено не было. При этом масса тела крыс достоверно снижалась в ряду 100%→100%+75%+50%→30%+25%+21%→19%+9% - рисунок 2.

Общее состояние крыс группы с обеспеченностью эссенциальными веществами на уровне 4%+2% было неудовлетворительным, начиная с 45-го дня эксперимента зафиксированы случаи гибели животных этой группы. При проведении постмортальной некропсии обнаружены патологические изменения, характерные для кахексии: уменьшение висцеральной и подкожной жировой ткани, атрофия всех групп скелетных мышц, уменьшение размеров внутренних органов и др. Масса тела животных этой группы была значительно ниже, чем масса тела крыс со 100%-9%-ной обеспеченностью эссенциальными веществами.

Общее состояние крыс в группах, подвергшихся воздействию кадмия или четыреххлористого углерода на фоне различной обеспеченности эссенциальными веществами, было удовлетворительным, по внешнему виду, поведению и качеству шерстного покрова различий между группами, а также отличий от соответствующих контрольных групп не выявлено.

Масса печени крыс коррелировала со значениями массы тела, также уменьшаясь в ряду 100%→100%+75%+50%→30%+25%+21%→19%+9%→4%+2%, относительная масса печени не различалась между группами - рис. 3.

Морфологические исследования печени показали, что у животных всех групп микроструктура печени сохранена, гепатоциты имели хорошо выраженные контуры, округлой формы с расположенным в центре круглым ядром и преимущественно однородной, без включений цитоплазмой.

У животных, подвергавшихся воздействию кадмия, в печени не обнаружено морфологических признаков интоксикации, тогда как на фоне действия CCl_4 отмечен ряд патологических изменений, включавших средне- и крупнокапельный стеатоз всех зон ацинуса, лобулярное воспаление, а также перипортальный и центролобулярный фиброз. Действие CCl_4 на фоне 19%-ной обеспеченности витаминами и минеральными веществами вызывало более выраженные признаки стеатоза, липидные включения встречались у большего количества гепатоцитов.

Морфометрические исследования структуры паренхимы печени выявили определенные различия между группами животных, получавшими рационы с разным содержанием витаминов и минеральных веществ: размер гепатоцитов снижался в ряду понижения содержания эссенциальных веществ в рационе – 100%→100%+75%+50%→30%+25%+21%→19%+9%→4%+2% (табл. 2).

В группах, получавших токсическую нагрузку четыреххлористым углеродом, размер гепатоцитов центральной и периферической зоны дольки значительно увеличивался, причем наиболее заметные изменения наблюдались у группы с 19% обеспеченностью эссенциальными веществами в рационе (табл. 2).

В группах, получавших токсическую нагрузку кадмием, размеры гепатоцитов имели схожие изменения, но не такие выраженные и наиболее заметные изменения наблюдались у группы с 30% обеспеченностью эссенциальными веществами (табл. 2).

Для упрощения оценки степени изменения изученных показателей все результаты были обобщены на графиках, где значение каждого из показателей в группе с оптимальной обеспеченностью эссенциальными веществами (эталонный стандарт), принято за 100% (на графике соответствуют нулю по оси абсцисс), а процентные соотношения различий с анализируемыми группами представлены в виде столбиков (рис. 4-5).

Морфометрические исследования гепатоцитов выявили линейные изменения (снижение размеров структурных элементов клетки) в ряду сокращения содержания эссенциальных веществ в рационах (рис. 4-5). В условиях 2-4%-ной обеспеченности витаминами и минеральными веществами диаметры клетки и ядра, а также размер цитоплазмы были, соответственно, на 16,8, 12,6 и 21,1% ниже ($p<0,05$), чем у крыс с оптимальной обеспеченностью этими веществами; в условиях 9-19%-ной обеспеченности – на 9,2, 9,7 и 8,7% ниже ($p<0,05$); более высокие уровни обеспеченности вызывали снижение размеров гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы в диапазоне, не превышавшем 5,0% ($p>0,05$).

Сравнительный анализ размеров гепатоцитов крыс, подвергавшихся действию токсикантов на фоне 75, 30 и 19%-ной обеспеченности витаминами и минеральными веществами, продемонстрировал повышение размеров гепатоцитов под действием четыреххлористого углерода в среднем на 17,8, 13,6 и 21,0% ($p<0,05$) (здесь и далее – от уровня контрольной группы с оптимальной обеспеченностью эссенциальными веществами); под действием солей кадмия – на 3,4, 8,9 и 1,4%, соответственно. При сравнении размеров гепатоцитов крыс, испытывавших токсическую нагрузку, с гепатоцитами крыс, отнесенных к эталонному стандарту, отмечено повышение размеров гепатоцитов под действием четыреххлористого углерода в среднем на 17,4%, под действием солей кадмия – на 4,6% (рис. 4-5).

Таблица 2. Морфометрические показатели гепатоцитов

Показатель		Группа животных										
		Не подвергались токсическому воздействию					Подвергались токсическому воздействию					
		100%	100%+75% +50%	30%+25%+ 21%	19%+9%	4%+2%	75% +CCl_4	30% +CCl_4	19% +CCl_4	75%+Cd	30%+Cd	19%+Cd
Диаметр клетки, мкм	M±m	16,07±0,17	16,16±0,09	15,50±0,09*	14,60±0,13*	13,26±0,14*	18,77±0,24*	18,15±0,26*	20,04±0,29*	16,49±0,16	17,44±0,21*	15,81±0,22
	min-max	*12,60±20,45*	*11,15-23,08*	*10,31-21,47*	*9,07-22,22*	*9,33-18,41*	*14,52-23,70*	*13,01-25,58*	*14,42-26,60*	*12,65-19,95*	*12,40-22,64*	*11,42-23,23*
Диаметр ядра, мкм	M±m	8,10±0,07	8,01±0,04	7,74±0,04*	7,21±0,06*	7,00±0,06*	9,57±0,10*	9,26±0,11*	9,85±0,10*	7,73±0,08*	8,45±0,08*	7,42±0,08*
	min-max	*6,52-10,19*	*5,36-10,48*	*5,78-9,62*	*4,65-10,07*	*5,11-9,47*	*7,62-12,19*	*7,26-12,10*	*7,85-13,17*	*5,83-9,19*	*6,25-10,57*	*5,77-10,37*
Размер цитоплазмы, мкм	M±m	7,97±0,15	8,15±0,08	7,76±0,08	7,38±0,11*	6,26±0,12*	9,20±0,21*	8,89±0,20*	10,19±0,26*	8,77±0,14*	9,00±0,17*	8,39±0,20
	min-max	*4,86-12,04*	*4,37-14,16*	*3,94-12,90*	*2,64-14,01*	*2,41-11,21*	*4,00-14,84*	*5,12-14,74*	*5,17-17,48*	*5,75-11,79*	*4,56-12,78*	*4,91-15,94*

* - в табл. 2 и рис. 2-5 достоверные отличия от группы Контроль 100% при $p<0,05$

Рис. 2. Изменение массы тела крыс в зависимости от уровня обеспеченности эссенциальными микронутриентами

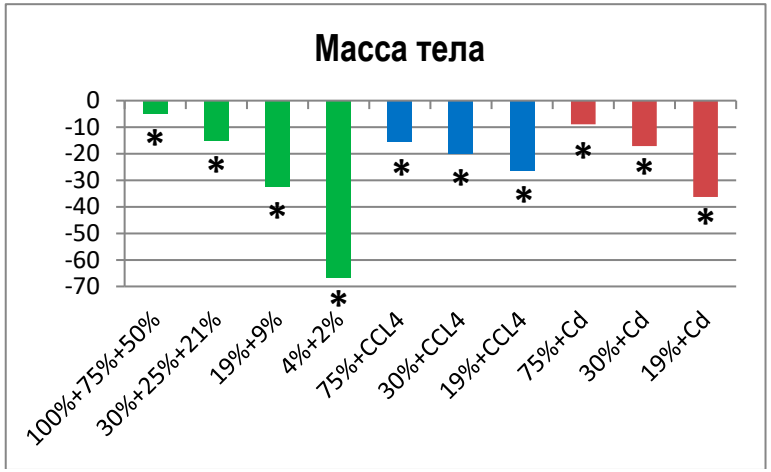


Рис. 3. Изменение массы печени в зависимости от уровня обеспеченности эссенциальными микронутриентами

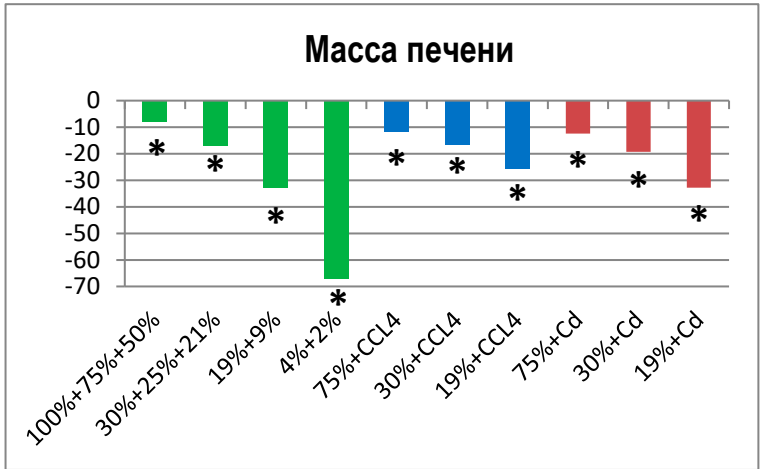


Рис. 4. Изменения диаметра гепатоцитов в зависимости от уровня обеспеченности эссенциальными веществами

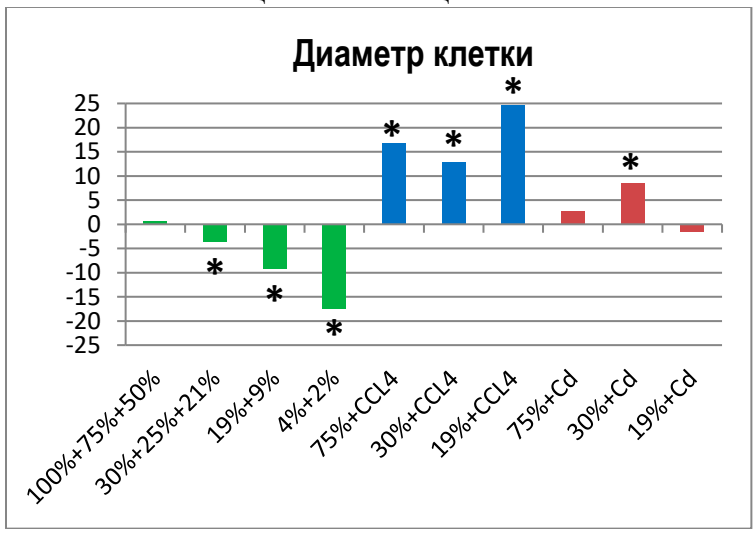
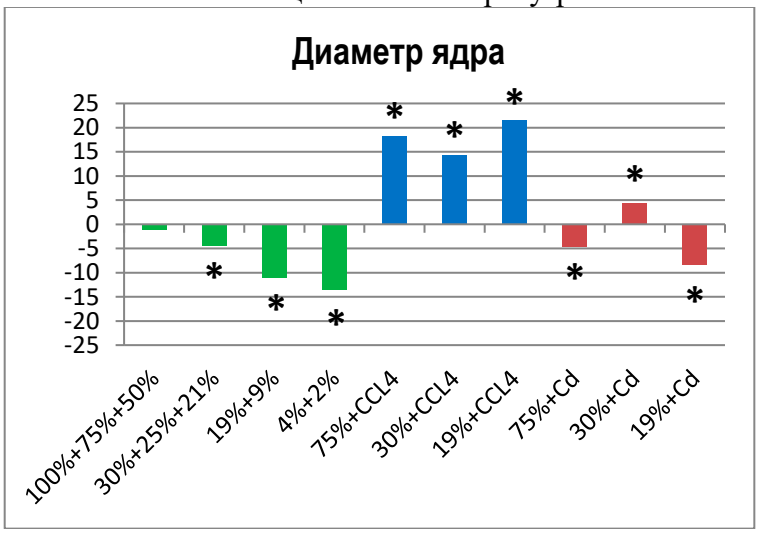


Рис. 5. Изменения диаметра ядра гепатоцитов от уровня обеспеченности эссенциальными микронутриентами



Заключение

Таким образом, на основании анализа данных морфологических и морфометрических исследований печени были установлены размеры структурных элементов гепатоцитов у крыс, содержавшихся на рационах со снижающейся обеспеченностью витаминами группы В, солями железа и магния; выявлено линейное снижение размеров структурных элементов гепатоцитов в ряду сокращения этих эссенциальных веществ в рационах; токсические воздействия приводили к увеличению размеров гепатоцитов, взаимосвязь с уровнем обеспеченности не значительна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Тимонин А.Н., Шестакова С.И., Требух М.Д., Пашорина В.А. Модификация витаминно-минерального состава рационов как модель снижения адаптационного потенциала крыс для токсикологических исследований // Вопросы питания. 2016. Т. 85. № 6. С. 64-71. DOI: 10.24411/0042-8833-2016-00079.
2. Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Тимонин А.Н., Шестакова С.И., Мустафина О.К., Сото С.Х. Изучение влияния интоксикации кадмием на модели витаминно-минеральной недостаточности у крыс // Вопросы питания. 2018. Т. 87. №1. С. 63-71. doi: 10.24411/0042-88332018-10007.
3. Никитин Н.С. Морфологические изменения печени крыс в условиях витаминно-минеральной недостаточности // Вопросы питания. 2018. Т.87. № S5. С. 39-40. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10122.
4. Тышко Н.В., Никитин Н.С., Шестакова С.И., Садыкова Э.О., Требух М.Д., Гусева Г.В. и др. Системные биомаркеры и морфология печени крыс при хроническом введении малых доз токсикантов на фоне витаминной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2022. Т.174. №9. С.356-360. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-356-360.
5. Никитин Н.С., Кузнецов С.Л., Тышко Н.В. Микроструктура печени у крыс при введении CCL4 на фоне витаминно-минеральной недостаточности // Морфология. 2019. Т. 155. № 3. С. 42-47.
6. Никитин Н.С., Тышко Н.В. Морфологические особенности печени крыс в условиях разной обеспеченности витаминами и минеральными веществами // Вопросы питания. – 2023. – Т. 92. – № 5. – С. 72-81.
7. Коржевский. Д.Э. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии. Санкт-Петербург.: СпецЛит, 2013. 128 с. ISBN 978-5-299-00569-1.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ, ПРЕДРАКОВЫХ И РАКОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ УРОТЕЛИЯ

В.В. Печникова[1,2], Л.М. Михалёва[1,2]

[1]«Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского», г. Москва, Россия

[2]Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Россия

Актуальность темы исследования. Рак мочевого пузыря (РМП) является значимой проблемой здравоохранения, в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России РМП занимает 9-е место у мужчин и 16-е у женщин [1]. Высокая тенденция к рецидивам, прогрессированию или метастазированию РМП требует значительных затрат для системы здравоохранения [2]. Одним из решений данной проблемы представляется сдвиг клинической парадигмы с лечения на предупреждение РМП, а именно поиск факультативных и облигатных предраковых поражений уротелия. Адекватная и своевременная диагностика поражений уротелия (в том числе предраковых) может снизить затраты, а также показатели заболеваемости и смертности [3].

Крайне важной проблемой патоморфологии является дифференциальная диагностика воспалительных (реактивная атипия) и предраковых (дисплазия) поражений уротелия. Гистологическая диагностика зачастую вызывает значительные затруднения у врачей-патологоанатомов в трактовке происходящего процесса в тканях мочевого пузыря. Риск прогрессии уротелиальной дисплазии в карциному является чрезвычайно важным вопросом, ведь при ошибочной диагностике последствия для пациентов могут быть фатальными. В дополнение к рутинному гистологическому методу для дифференциальной диагностики реактивной атипии от дисплазии применяется иммуногистохимическое исследование, однако в диагностике реально широко применяется лишь небольшая панель антител (CK20, p53 и CD44). По данным Международного общества уропатологов (International Society for Urological Pathology, ISUP), чрезмерное доверие специалистов-патоморфологов к данной панели антител может ввести в заблуждение, особенно при условиях оценки изменений в биоптате после проведенного лечения [4]. Поэтому поиск новых антител (а также их валидация в клинической практике), способствующих дифференциальной диагностике между реактивными и диспластичными

изменениями уротелия, представляется крайне актуальной и важной задачей, способствующей формированию более точного диагностического подхода к данным поражениям.

Другим важным аспектом является определение злокачественного потенциала карцином мочевого пузыря. По данным литературы, мышечно-инвазивная карцинома мочевого пузыря имеет худший прогноз по сравнению с мышечно-неинвазивным раком из-за более высокой частоты метастатического распространения [5], а также кардинально отличается по молекулярному профилю [6]. Молекулярно-генетическое тестирование опухолей мочевого пузыря на данный момент является малодоступным и сложным методом, который не используется в клинической практике [7; 8]. Возможно, использование опосредованного иммуногистохимического метода сможет продемонстрировать подлежащие молекулярные пути в диагностируемой опухоли мочевого пузыря для определения дальнейшего прогноза заболевания у пациентов, однако на настоящий момент данные иммуногистохимических исследований малочисленны и требуют последующей валидации.

Цель исследования. Определить иммуногистохимические особенности реактивной атипии, дисплазии и уротелиальных карцином мочевого пузыря.

Материалы и методы исследования. В ретроспективное исследование были включены 120 пациентов (мужчины – 77, женщины – 43) с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия, проходивших лечение в ГБУЗ «ГКБ №31 им. академика Г. М. Савельевой ДЗМ» в период с 2016 по 2021 год, которые составили основную группу исследования. Возраст пациентов основной группы варьировал от 39 до 91 года, медиана возраста пациентов составила 69 лет.

Всем пациентам была проведена цистоскопия мочевого пузыря с оценкой эндоскопической картины патологически измененной стенки пузыря. 62 пациентам была выполнена биопсия мочевого пузыря, 58 пациентам была выполнена трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря. После проведения внутрипузырных хирургических вмешательств было проведено патолого-анатомическое исследование полученного биопсийного и операционного материала по стандартной методике с разделением пациентов на четыре подгруппы. В первую подгруппу (I) вошли 11 пациентов с реактивной атипией уротелия, во вторую подгруппу (II) – 24 пациента с уротелиальной дисплазией, в третью подгруппу (III) – 51 пациент с МНИРМП (из них пациенты со стадией Ta – 11, T1 – 40) и в четвертую подгруппу (IV) – 34 пациента с МИРМП.

Для проведения ИГХ-исследования с антителами CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 были отобраны 10 случаев из каждой подгруппы (I–IV) исследования ($n_I = 10$; $n_{II} = 10$; $n_{III} = 10$; $n_{IV} = 10$).

Оценку ИГХ-реакции к CK7, CK20, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 производили на полученных изображениях с использованием стандартного подхода: осуществлялся подсчет числа клеток в пятнадцати полях зрения при увеличении ×400. При этом определяли общее число опухолевых клеток, количество окрашенных клеток и интенсивность их окрашивания. Полуколичественная оценка выраженности экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 производилась с использованием формулы HistoScore: HScore = Σ (Pi × i), где i – интенсивность окрашивания со значением 0, 1, 2 или 3 (негативная, слабая, умеренная или сильная соответственно), а Pi – процент окрашенных клеток для каждой интенсивности, варьирующий от 0% до 100%. Результаты ИГХ-реакции записывали в баллах от 0 до 300. Анализ иммуногистохимической реакции к Ki-67 выражался в процентном заключении от 0 до 100%. Подсчитывали количество Ki-67 положительных клеток на 100–200 опухолевых клеток. Индекс Ki-67 определяли по формуле: число Ki-67 положительных клеток × 100 / общее количество клеток.Анализ иммуногистохимической реакции к HER2 (ввиду отсутствия стандартизированных протоколов окрашивания для образцов тканей мочевого пузыря) проводился на основании рекомендаций ASCO/CAP от 2018 г. [9] по определению HER2 при раке молочной железы и выражался в балльном заключении (от 0 до 3).

Для дальнейшего сравнения групп по показателям HScore, Ki-67 (%), HER2 (баллы) было использовано среднее арифметическое (M) по всем полям зрения.

Статистическую обработку данных осуществляли методами параметрического и непараметрического анализа с использованием пакетов программ Microsoft Office Excel 2016 (США), IBM SPSS (США), Jamovi 2.3.21 (свободно распространяемое программное обеспечение с открытым исходным кодом (open source)). Определение нормальности распределения осуществляли на основе расчета критериев Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка. Для описания тенденций величин с распределением, отличным от нормального, использовались медиана, 1-й (нижний) и 3-й (верхний) квартили (Me (L; U)). Значимость различий между несколькими независимыми выборками оценивалась с помощью H-критерия Краскела—Уоллиса с проведением апостериорных множественных попарных сравнений методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. На первом этапе нашего исследования была проведена морфометрическая оценка полученных иммуногистохимических реакций в I-IV подгруппах исследования с использованием методики HScore, а также произведен подсчет индекса пролиферации Ki-67 (%) и баллов HER2.

На рисунке 1 и 2 представлены микрофотографии изображений иммуногистохимических реакций.

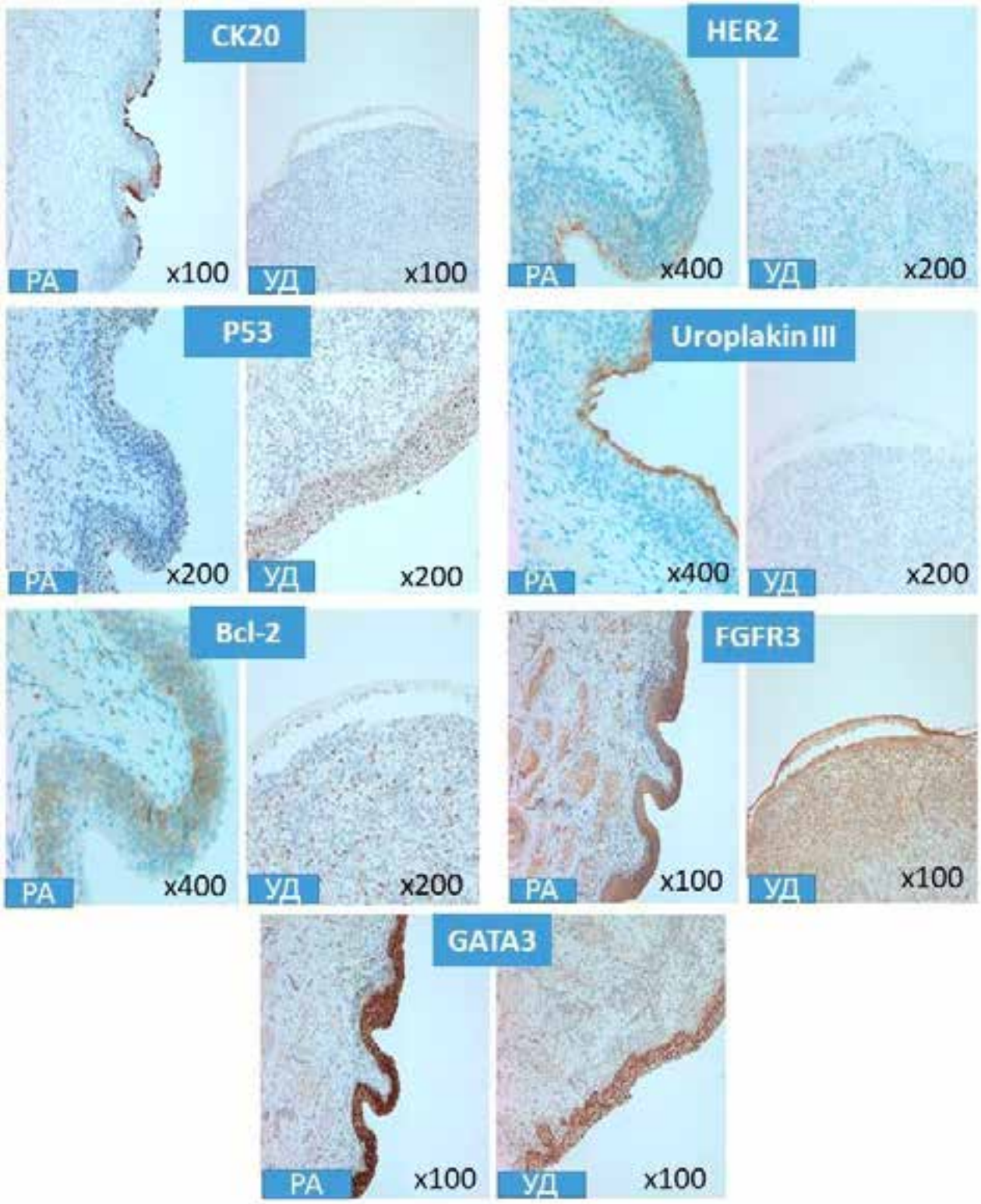


Рисунок 1. ИГХ: экспрессия CK20, p53, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, GATA3 в I-II подгруппах: РА – реактивная атипия, УД – уротелиальная дисплазия

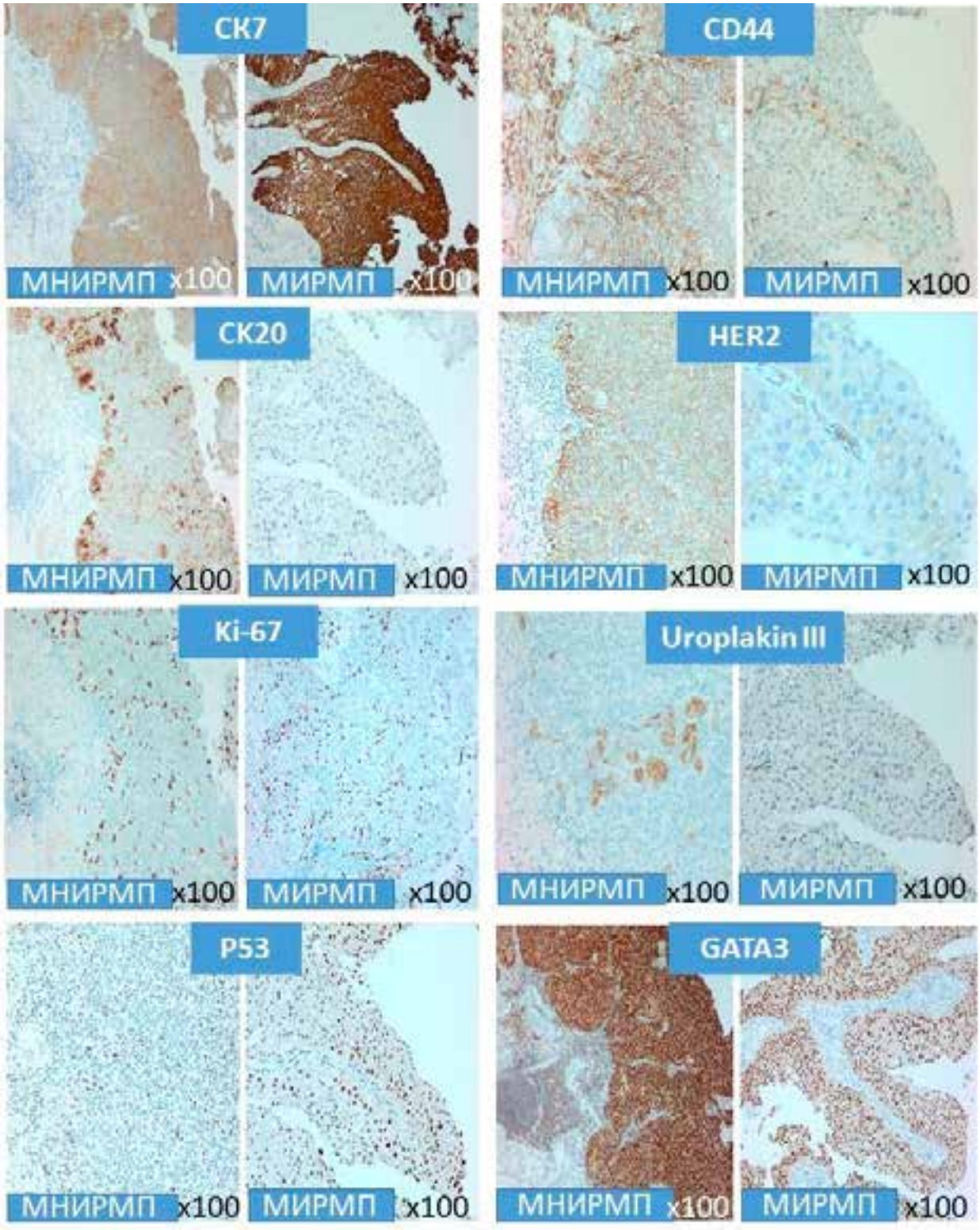


Рисунок 2. ИГХ: экспрессия CK20, p53, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, GATA3 в III-IV подгруппах: МНИРМП – мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря, МИРМП – мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря

Полученные медианные значения иммуногистохимических реакций (показателей HScore, индекса пролиферации Ki-67 (%), баллов HER2) отображены в Таблице 1.

Таблица 1. Результаты иммуногистохимического исследования (показатели экспрессии маркеров) в I-IV подгруппах

	Подгруппа			
Маркер (количественный показатель - Me (Q1; Q3))	Подгруппа I (реактивная атипия)	Подгруппа II (уротелиальная дисплазия)	Подгруппа III (мышечно-неинвазивный рак)	Подгруппа IV (мышечно-инвазивный рак)
CK7 (балл HScore)	281 (279; 284)	284 (282; 288)	259 (222; 259)	294 (291; 297)
CK20 (балл HScore)	285 (106; 287)	1,8 (0,64; 136)	210 (83,2; 290)	0,2 (0; 1,55)
Ki-67 (%)	8,2% (8,05; 9,1%)	1,1% (0,25%; 7,1%)	21% (21%; 21,5%)	53,6% (49,5%; 54,4%)
p53 (балл HScore)	3,26 (3,26; 59)	101 (36,7; 125)	17,1 (15,9; 17,1)	119 (119; 120)
CD44 (балл HScore)	175 (173; 176)	104 (27,5; 248)	220 (184; 230)	23 (22,8; 24,4)
Bcl-2 (балл HScore)	109 (108; 110).	0 (0; 0,79)	67,3 (0; 141)	0 (0; 0)
HER 2 (балл)	1 (1; 1)	0 (0; 0)	1,5 (1; 2)	0 (0; 0,75)
Uroplakin III (балл HScore)	27,6 (26,9; 28,5)	0 (0; 0)	19,4 (10,7; 21,8)	0 (0; 0)
FGFR3 (балл HScore)	249 (243; 250)	118 (118; 237)	130 (111; 174)	246 (244; 249)
GATA3 (балл HScore)	292 (292; 292)	163 (158; 205)	182 (182; 182)	204 (203; 210)
PTEN (балл HScore)	295 (295; 296)	232 (171; 291)	289 (289; 291)	288 (287; 288)

Для определения значимости различий ИГХ-экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 между подгруппами исследования (I-IV) мы воспользовались H-критерием Краскела—Уоллиса, который показал значимые различия во всех исследуемых подгруппах (Таблица 2).

Таблица 2. Сравнение экспрессии ИГХ-маркеров в I-IV подгруппах (H-критерий Краскела—Уоллиса)

ИГХ-маркер (метод подсчета)	**Критерий согласия Пирсона χ^2**	**df (степеней свободы)**	**p-уровень значимости**	**Размер эффекта ε^2**
CK7 (HScore)	18,97	3	< 0,001	0,486
CK20 (HScore)	24,59	3	< 0,001	0,630
Ki-67 (%)	26,47	3	< 0,001	0,679
p53 (HScore)	21,36	3	< 0,001	0,548
CD44 (HScore)	14,01	3	0,003	0,359
Bcl-2 (HScore)	13,78	3	0,003	0,353
HER2 (баллы)	30,42	3	< 0,001	0,780
Uroplakin III (HScore)	34,97	3	< 0,001	0,897
FGFR3 (HScore)	12,19	3	0,007	0,313
PTEN (HScore)	9,80	3	0,020	0,251
GATA3 (HScore)	26,59	3	< 0,001	0,682

Для интерпретации результатов однофакторного дисперсионного анализа Краскела—Уоллиса нами были проведены апостериорные попарные сравнения методом (тестом) Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера. В ходе исследования были выявлены значимые различия по параметру HistoScore между двумя исследуемыми подгруппами (I и II) с маркерами CK20 (Me_I = 285; Me_{II} = 1,8; W = –4,079; p = 0,021), p53 (Me_I = 3,26; Me_{II} = 101; W = 4,15; p = 0,018), Bcl-2 (Me_I = 109; Me_{II} = 0; W = –3,979; p = 0,025), HER2 (Me_I = 1; Me_{II} = 0; W = –6,16; p < 0,001), Uroplakin III (Me_I = 27,6; Me_{II} = 0; W = –5,71; p < 0,001), FGFR3 (Me_I = 249; Me_{II} = 118; W = –3,665; p = 0,047) и GATA3 (Me_I = 295; Me_{II} = 232; W = –5,374; p < 0,001). Экспрессия CK20, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3 была более выражена в группе реактивной атипии. Диспластичные поражения, напротив, характеризовались почти полной потерей экспрессии CK20, Bcl-2, HER2 и Uroplakin III. Экспрессия FGFR3 и GATA3 во II подгруппе была сниженной,

однако отмечалась яркая реакция с маркером p53. В подгруппе реактивной атипии экспрессия p53 практически полностью отсутствовала. Наиболее значимые отличия были выявлены для маркеров HER2, Uroplakin III и GATA3.

Дополнительно в нашей работе продемонстрированы значимые различия по параметру HistoScore между III и IV подгруппами с маркерами CK7 (Me_{III} = 259; Me_{IV} = 294; W = 4,31; p = 0,012), CK20 (Me_{III} = 210; Me_{IV} = 0,2; W = –5,386; p < 0,001), Ki-67 (Me_{III} = 21%; Me_{IV} = 53,6%; W = 5,40; p < 0,001), p53 (Me_{III} = 17,1; Me_{IV} = 119; W = 5,39; p < 0,001), CD44 (Me_{III} = 220; Me_{IV} = 23; W = –5,390; p < 0,001), HER2 (Me_{III} = 1,5; Me_{IV} = 0; W = –4,84; p = 0,003), Uroplakin III (Me_{III} = 19,4; Me_{IV} = 0; W = –5,72; p < 0,001) и GATA3 (Me_{III} = 289; Me_{IV} = 288; W = –4,312; p = 0,012). В подгруппе МИРМП отмечалась отрицательная реакция с маркерами CK20, CD44, HER2, Uroplakin III, сниженный уровень экспрессии GATA3, но более яркие показатели маркеров CK7 и p53. Индекс пролиферации Ki-67 в МИРМП был в 2 раза выше, чем в МНИРМП. В мышечно-неинвазивных карциномах (III подгруппа) отмечалась выраженная реакция с маркерами CK20, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3, экспрессия p53 была слабой. Отличия с наибольшей значимостью наблюдались у маркеров CK20, Ki-67, p53, CD44 и Uroplakin III.

В заключение, выявленные значимые различия между исследованными подгруппами отображены в таблице 3. Стоит отметить, что в нашем исследовании значимых различий между I-IV подгруппами в экспрессии ИГХ-маркера PTEN не было обнаружено.

Таблица 3. Попарные сравнения экспрессии ИГХ-маркеров в I-IV подгруппах, имевших значимые результаты (апостериорные сравнения методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера)

Попарное сравнение подгрупп	**ИГХ-маркер**	**W-критерий Вилкоксона**	**p-уровень значимости**
I и II	CK20	–4,079	0,021
	p53	4,15	0,018
	Bcl-2	–3,979	0,025
	HER2	6,16	< 0,001
	Uroplakin III	–5,71	< 0,001
	FGFR3	–3,665	0,047
	GATA3	–5,374	< 0,001
I и III	CD44	3,780	0,038
	FGFR3	–3,661	0,047
	GATA3	–5,398	< 0,001

I и IV	CK7	4,92	0,003
	CK20	–5,388	< 0,001
	Ki-67	5,36	< 0,001
	p53	5,44	< 0,001
	Bcl-2	–4,829	0,004
	HER2	–4,52	0,008
	Uroplakin III	–5,71	< 0,001
	GATA3	–5,353	< 0,001
II и III	CK20	4,078	0,021
	HER2	5,81	< 0,001
	Uroplakin III	5,72	< 0,001
II и IV	CK7	4,71	0,005
	Ki-67	5,36	< 0,001
III и IV	CK7	4,31	0,012
	CK20	–5,386	< 0,001
	Ki-67	5,40	< 0,001
	p53	5,39	< 0,001
	CD44	–5,390	< 0,001
	Uroplakin III	–5,72	< 0,001
	GATA3	–4,312	0,012

Заключение. Нами была продемонстрирована иммуногистохимическая панель антител для дифференциальной диагностики реактивной атипии и уротелиальной дисплазии (с маркерами CK20, p53, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3), которая облегчит работу врачей-патологоанатомов в интерпретации сложных морфологических случаев.

По результатам проведенной работы нами представлен иммунофенотип мышечно-неинвазивных и мышечно-инвазивных уротелиальных опухолей при помощи антител к CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3. Полученная панель не только разграничивает молекулярные подтипы карцином, но также опосредованно позволяет выявить высокий потенциал инвазии опухоли в мышечную оболочку пузыря, что крайне важно для определения последующего прогноза заболевания и выбора тактики лечения у пациентов.

Проведенное нами исследование и полученные данные могут привлечь большее внимание врачей-патологоанатомов, урологов и онкологов к проблеме диагностики воспалительных, предраковых и раковых поражений мочевого пузыря, что в дальнейшем поспособствует оптимизации подходов к выявлению и лечению данных патологических процессов, а также минимизирует риск развития возможных осложнений (в том числе и раковых) у пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 252 с.

2. Economic impact of bladder cancer (BC) in the United States (US) / O. Clark [et al.] // Journal of Clinical Oncology – 2023. – Vol. 41. – № 6_suppl. – P. 479-479.

3. Direct and indirect medical costs of bladder cancer in Iran. / M. Raadabadi [et al.] // Cost effectiveness and resource allocation. – 2023. – Vol. 21. – № 5.

4. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in urologic pathology: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference / M. B. Amin [et al.] // The American journal of surgical pathology. – 2014. – Vol. 38. – № 8. – P. 1017-1022.

5. Molecular classification of urothelial bladder carcinoma / L. Schwarzova [et al.] // Mol Biol Rep. – 2023. – Vol. 50. – № 9 – P. 7867–7877.

6. Contemporary Molecular Classification of Urinary Bladder Cancer / D. Goutas [et al.] // In vivo (Athens, Greece). – 2021. – Vol. 35. – № 1. – P. 75-80.

7. A validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial carcinoma using the TCGA cohort / N. A. Marzouka [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 3737.

8. Molecular Oncology of Bladder Cancer from Inception to Modern Perspective / S. D. Lokeshwar [et al.] // Cancers. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2578.

9. ASCO/CAP 2018 breast cancer HER2 testing guidelines: summary of pertinent recommendations for practice in Australia / G. Farshid [et al.] // Pathology. – 2019. – Vol. 51. – № 4. – P. 345-348.

Контактная информация

Печникова Валентина Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии "НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына" ФГБНУ "РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского"; врач-патологоанатом патолого-анатомического отделения ГБУЗ "ГКБ №31 им. академика Г.М. Савельевой ДЗМ".

Pechnikova Valentina Viktorovna – fellow researcher of the Laboratory of Clinical Morphology at Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; pathologist of the Pathology Department, City Clinical Hospital №31.

Михалева Людмила Михайловна – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии "НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына" ФГБНУ "РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского"; заведующая патолого-анатомическим отделением ГБУЗ "ГКБ №31 им. академика Г.М. Савельевой ДЗМ".

Mikhaleva Liudmila Mikhailovna – Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology at Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Head of the Pathology Department, City Clinical Hospital №31.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА СИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ОСТЕОБЛАСТОВ И ОСТЕОКЛАСТОВ

Н.А. Ситникова, А.В. Бахарева, Н.А. Бондаренко

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии-филиал ФИЦ ИЦИГ СО РАН

В связи с современным образом жизни, увеличением продолжительности жизни людей, все больше пожилых пациентов имеет неизлечимые хронические заболевания, которые оказывают большое влияние на качество жизни. Хронические заболевания костной системы, такие как остеопороз, приводят к повышению риска переломов со сложностью в их заживлении и длительной иммобилизацией, вплоть до инвалидности.

В основе этого заболевания лежит нарушение минерального обмена костной ткани, в результате чего плотность и прочность кости снижается, становится хрупкой и подверженной разрушению [1]. Регуляцию минерального обмена кости осуществляют клетки – остеобласты, остеоциты и остеокласты. За синтез межклеточного вещества кости – коллагена 1 типа, а также за его минерализацию солями кальция в основном отвечают остеобласты [2]. Остеобласты подвержены воздействию большого количества иммунных и клеточных факторов, в связи с чем с возрастом их образование и синтетическая активность снижается [3]. Одновременно с этим происходит увеличение количества остеокластов – клеток, разрушающих минеральное вещество костной ткани, особенно у женщин в связи со снижением продукции эстрогена в менопаузе. Таким образом активность остеокластов возрастает и происходит активная деградация межклеточного вещества [4].

Выявление остеопороза проходит на основании вычисления индекса плотности костной ткани денситометрии и оценки риска возникновения перелома. По рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения вычисление плотности кости проводится в зонах позвоночника и бедра. Однако наиболее часто выявление плотности кости производится при значительном развитии болезни [1]. По этой причине методы лечения остеопороза включают в себя длительное применение лекарственных препаратов, что приводит к возникновению различных побочных эффектов [5]. Наиболее часто используемый препарат на ранних стадиях заболевания – это бисфосфонаты, которые становятся мишенями для остеокластов, в результате чего сохраняется собственное межклеточное вещество и индуцируется их апоптоз. Однако они могут привести к

развитию атипичных переломов и остеонекроза челюсти, поэтому прием бисфосфонатов ограничен по времени [6]. Также стандартным типом терапии остеопороза являются селективные модуляторы рецепторов эстрогена, которые применяются при постменопаузальном остеопорозе и снижении количества эстрогена. Эстроген и его заместители приводят к активации апоптоза остеокластов, снижая резорбцию кости, однако на данный момент эстроген-заместительная терапия не рекомендуется к применению как первично назначаемый препарат[7]. Из наиболее новых препаратов применяется моноклональные антитела к RANKL белку, который стимулирует развитие остеокластов. Моноклональные антитела блокирует связь RANKL со своим рецептором на остеокластах, ингибируя их активность. Однако рецепторы к RANKL также присутствуют на дендритных клетках и на активированных Т-лимфоцитах, что приводит к побочным эффектам со стороны иммунной системы [6].

Таким образом, существует необходимость в новых препаратах, которые имели бы меньшее количество побочных эффектов, а также воздействовали в большей степени не только на снижение активности остеокластов, но и усиливали дифференцировку и синтетическую активность остеобластов.

Цель исследования заключается в изучении влияния экстрактов растительных комплексов на функциональную активность остеобластов и остеокластов человека.

Материалы и методы

Нашими коллегами в наукограде Кольцово был создан экспериментальный препарат (НаБиКат) на основе растительных компонентов, с использованием инновационной запатентованной технологии измельчения и активации [8]. В состав экспериментального растительного комплекса входят листья зеленого чая, содержащего фитоэстрогены и противовоспалительные флавоноиды, жмых облепихи, имеющей в своем составе большое количество активных веществ, включая антиоксидантные флавоноиды, и шелуха риса.

В работе были использованы водные экстракты растительных комплексов (основа НаБиКат+, производства ООО «ЦВТ») с разным количественным содержанием жмыха облепихи (1:0 – №1 комплекс, 1:1 – №2 комплекс, 1:2 – №3 комплекс, 1:3 – №4 комплекс, 1:4 – №5 комплекс). Водные экстракты получали путем инкубирования порошков в дистиллированной воде при 37 C^0 в течении 24 часов с последующей фильтрацией. Для проведения in vitro исследования нами были использованы культура клеток U2OS – остеобласты человека, а также дифференцированные из мононуклеаров крови человека с помощью белков M-CSF и RANKL остеокласты. Для оценки воздействия растительного экстракта на синтетическую активность клеток костной ткани, клетки были посажены в 6-луночные планшеты по $2*10^5$ клеток в лунку с последующим добавлением

растительных экстрактов в концентрации 0,6 мг/мл для инкубации в течение 3 суток. Инкубированные с растительными экстрактами клетки были окрашены антителами к ключевым белкам остеобластов (коллаген 1 типа и RANKL) и остеокластов (MMP9 и Catepsin K) по методике изготовителя. Клетки, окрашенные антителами, были подсчитаны и проанализированы с помощью проточной цитометрии на цитофлуорометре BD FACSCanto™ (BD Biosciences, Systems And Reagents, Inc.; California 95131, USA). Также был оценен относительный уровень экспрессии генов *Coll1a1* в остеобластах*, mmp9, Catepsin K* в остеокластах методом ОТ-ПЦР в реальном временем. Обсчет полученных данных проводился по ΔΔCt по отношению к гену домашнего хозяйства *gadph*. Статистическая обработка данных проводилась в STATISTICA 8 по критерию Манна-Уйтни со значимостью $p < 0,05$.

Результаты

Водные экстракты растительных фитокоплексов на основе зеленого чая, риса и облепихи являются перспективным препаратом в качестве предотвращения развития остеопороза в группах риска или на начальной стадии развития заболевания.

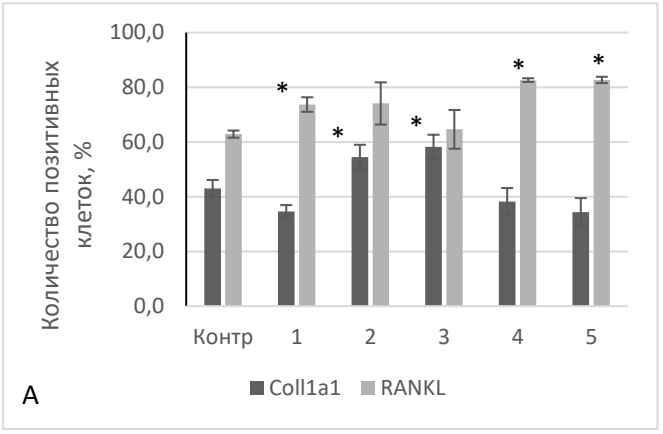
Базовая смесь зеленого чая и риса, измельченная по запатентованной технологии, содержит богатый микроэлементами химический состав, в котором в значительном количестве находятся частицы Si (Табл. 1). Кремний участвует в начальных этапах процесса синтеза костной ткани и активирует функциональную активность остеобластов [9, 10]. Кроме того, в составе растительного комплекса определено содержание железа, калия, магния, которые совместно с богатым содержанием флавоноидов в зеленом чае могут способствовать укреплению и плотности костной ткани.

Таблица 1. Концентрация ключевых химических элементов в водном экстракте базового растительного комплекса из риса и зеленого чая

Химические элементы	**мкг/мл**
Ca	15,3±0,86
Fe	5,7±0,87
Mn	16,4±1,33
Si	119,3±5,71

Для синтеза костной ткани наибольшее значение имеет количество коллагена 1 типа, который при взаимодействии с солями кальция подвергается кальцификации и образованию твердых гидроксиаппатитов кости. В клетках остеобластов человека нами была оценена относительная экспрессия гена *Coll1a1* при инкубации с растительными экстрактами в

одинаковой концентрации в течение 3 суток. В результате установлено достоверное повышение экспрессии гена *Coll1a1* под влиянием растительного экстракта №2 и №3, которые содержат 1 и 2 части облепихи в своем составе, соответственно. Экстракты с добавлением облепихи более чем 2-х частей показывают обратный эффект, повышая уровень экспрессии гена *Coll1a1* до контрольных значений (Рис. 2). Аналогичный эффект наблюдается и в количестве белка коллагена 1 типа в клетках остеобластов (Рис. 1А). Такой эффект может быть опосредован воздействием активных веществ в составе облепихи как на экспрессию гена, так и на процесс образования белка, в частности гликозидами флавоноидов, растворимых в водной среде, к примеру гликозиды изорамнетина, кверцетина [11].



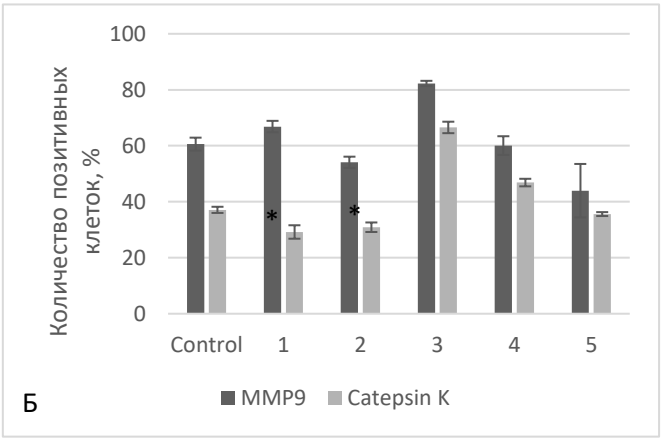


Рис. 1. Влияние экстрактов растительных комплексов на продукцию ключевых белков в клетках остеобластов (А) и остеокластов (Б), оцененное с помощью окраски антителами к Col1a1, RANKL на остеобластах и MMP9, Catepsin K на остеокластах. Статистическая значимость * - $p < 0,05$.

Помимо коллагена остеобласты являются клетками, регулирующими дифференцировку остеокластов путем синтеза белка RANKL [6]. При остеопорозе необходимо снизить уровень этого белка в костной ткани, чтобы уменьшить количество зрелых остеокластов. Однако, как видно из Рис. 1. исследуемые растительные экстракты № 2 и 3 не влияют на изменение количества данного белка в остеобластах, в то время как экстракты комплексов №1, 4, 5 увеличивают количество белка RANKL в остеобластах.

Вторым важным направлением в терапии и предотвращении остеопороза является снижение функциональной активности зрелых остеокластов. Остеокласты синтезируют большое количество литических ферментов, задача которых разрушать межклеточное вещество костной ткани. Среди них выделяют фермент MMP9, который расщепляет связи между цепочками коллагена, а также Катепсин К, задача которого расщеплять коллаген и эластин. Белок MMP9 синтезируется в неактивной форме и становится активным при выходе из клеточных везикул в межклеточное пространство[12]. При инкубации остеокластов с исследуемыми растительными

экстрактами №1 и №5 происходит снижение уровня экспрессии гена *mmp9* (Рис. 2). Однако из-за большой вариативности уровня экспрессии при применении остальных экстрактов влияние на уровень экспрессии можно считать незначительным. Количество же активного белка MMP9 в остеокластах никак не изменяется под действием исследуемых экстрактов (Рис 1. Б).

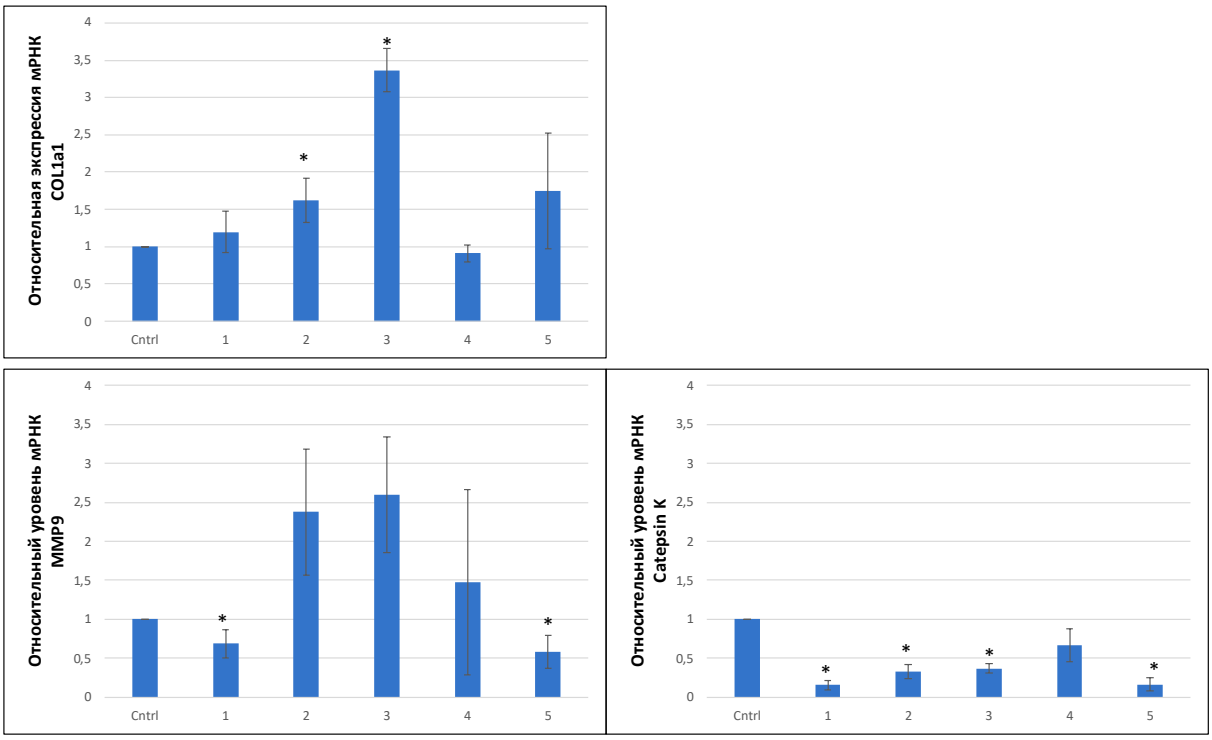


Рис. 2. Относительная экспрессия генов функциональных белков остеобластов (Col1a1) и остеокластов (MMP9, Catepsin K) после инкубации с водными растительными экстрактами

Уровень экспрессии гена *Catepsin K* при инкубации с растительными экстрактами снижается при применении всех образцов (Рис. 2). Катепсин К играет более значимую роль в разрушении межклеточного вещества кости и ингибиторы данного фермента являются редко применяемым экспериментальным типом лечения[12]. Однако достоверное снижение уровня самого белка в остеокластах наблюдается только при применении экстрактов №1 и №2 с минимальным содержанием облепихи в составе (Рис. 1Б).

Таким образом при сравнении влияния растительных экстрактов с различным содержанием облепихи №1-5 на синтетическую активность остеобластов и остеокластов, предпочтительным является фитокомплекс с составом №2 с наименьшим содержанием облепихи. Поскольку данный экстракт растительного комплекса одновременно оказывает стимулирующий эффект в отношении синтеза компонентов новой костной ткани и ингибирующий эффект в отношении ключевого литического фермента остеокластов – Катепсина К. Таким образом,

исследованный растительный комплекс является перспективным для дальнейшего изучения в качестве препарата для профилактики и лечения остеопороза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klibanski A., Adams-Campbell L., Bassford T.L., Blair S.N., S.D. B., Dickersin K., Gifford D.R., Glasse L., S.R. G., K. H. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy // JAMA: The Journal of the American Medical Association. — 2001. — Vol. 285. — No. 6. — P. 785-795.

2. Huang W., Yang S., Shao J., Li Y.P. Signaling and transcriptional regulation in osteoblast commitment and differentiation // Frontiers in Bioscience. — 2007. — Vol. 12. — No. 8. — P. 3068-3092.

3. Amarasekara D.S., Kim S., Rho J. Regulation of osteoblast differentiation by cytokine networks // International Journal of Molecular Sciences. — 2021. — Vol. 22. — No. 6. — P. 1-16.

4. Takayanagi H. Osteoclast differentiation and activation // Clinical calcium. — 2007. — Vol. 17. — No. 4. — P. 484-492.

5. Pavone V., Testa G., Giardina S.M.C., Vescio A., Restivo D.A., Sessa G. Pharmacological therapy of osteoporosis: A systematic current review of literature // Frontiers in Pharmacology. — 2017. — Vol. 8. — No. NOV. — P. 1-7.

6. Noh J.Y., Yang Y., Jung H. Molecular mechanisms and emerging therapeutics for osteoporosis // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Vol. 21. — No. 20. — P. 1-22.

7. Nakamura T., Imai Y., Matsumoto T., Sato S., Takeuchi K., Igarashi K., Harada Y., Azuma Y., Krust A., Yamamoto Y., Nishina H., Takeda S., Takayanagi H., Metzger D., Kanno J., Takaoka K., Martin T.J., Chambon P., Kato S. Estrogen Prevents Bone Loss via Estrogen Receptor α and Induction of Fas Ligand in Osteoclasts // Cell. — 2007. — Vol. 130. — No. 5. — P. 811-823.

8. . Способ получения аминооксиалкиленсодержащего олигоалкоксисилоксана и самоэмульгирующиеся композиции на его основе: : опубл. 2010 / K.A.D. Ivanov Vladimir Vasil’evich , Markuze Inna Jur’evna, Kopylov Viktor Mikhajlovich , Krivolapova Ol’ga Vital’evna.

9. Shie M.Y., Ding S.J., Chang H.C. The role of silicon in osteoblast-like cell proliferation and apoptosis // Acta Biomaterialia. — 2011. — Vol. 7. — No. 6. — P. 2604-2614.

10. Jugdaohsingh R. Silicon and bone health // Journal of Nutrition, Health and Aging. — 2007. — Vol. 11. — No. 2. — P. 99-110.

11. Mousavi S., Vakili S., Zal F., Savardashtaki A., Jafarinia M., Sabetian S., Razmjoue D., Veisi A., Azadbakht O., Sabaghan M., Behrouj H. Quercetin potentiates the anti-osteoporotic effects of alendronate through modulation of autophagy and apoptosis mechanisms in ovariectomy-induced bone loss rat model // Molecular Biology Reports. — 2023. — Vol. 50. — No. 4. — P. 3693-3703.

12. Kim B., Cho Y., Lim W. Osteoporosis therapies and their mechanisms of action (Review) // Experimental and Therapeutic Medicine. — 2021. — Vol. 22. — No. 6. — P. 1379.

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПЕРКАПНИЧЕСКИ-ГИПОКСИЧЕСКИХ ИНТЕРМИТТИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

П.П. Трегуб

Введение. Хорошо известно, что гипоксическое воздействие является не только повреждающим фактором, но методом, способным увеличивать толерантность головного мозга к дефициту кислорода/ишемии, а высокая нейропротекторная эффективность интермиттирующих гипоксических тренировок получила широкое признание [Li G., et al., 2016; Rybnikova EA, et al., 2022]. Вместе с тем, значительно возрос интерес к изучению терапевтической эффективности пермиссивной гиперкапнии и, стало понятно, что углекислый газ в нетоксичных дозах оказывает протекторное действие на головной мозг при гипоксическом/ишемическом повреждении [Tao T. et al., 2014; Pruimboom L. and Muskiet F.A.J., 2018].

Ранее было установлено, что гиперкапнически-гипоксические тренировки формирует более выраженную толерантность головного мозга к ишемии и гипоксии, по сравнению с их изолированным применением [Tregub P. et al., 2013, 2015] и была сформулирована гипотеза о механизме взаимного потенцирования протекторных эффектов гиперкапнии и гипоксии при их сочетанном интермиттирующем воздействии. Однако, нейропротекторные механизмы этой эффективности до недавнего времени были мало изучены. В то же время, эти данные представляют фундаментальную основу для разработки клинических методов респираторных тренировок, в т.ч. в комбинации с фармакологическими средствами, для профилактики и лечения инсульта, сосудистой деменции, нейродегенеративных заболеваний и перинатальных гипоксических повреждений.

По мнению ряда авторов, одними из ключевых молекулярно-клеточных механизмов формирования ишемической толерантности головного мозга являются: поддержание электролитного равновесия и митохондриального метаболизма нервных клеток, адаптивные эффекты митоК$^{+}_{АТФ}$-каналов и аденозиновых рецепторов, защита клеток от свободных радикалов, мобилизация эндоплазматического ретикулума, эффекты нейротрофических факторов и шаперонов, нейро- и синаптогенез, торможение апоптоза, сохранение селективной проницаемости ГЭБ и ангиогенез, а также эпигенетические эффекты HIF-1α [Obrenovitch TP, 2008; Koch S, et al., 2014; Sisalli MJ et al., 2015; Koizumi S, Hirayama Y., 2022].

Материалы и методы. Эксперименты проведены на моделях *in vitro* и *in vivo* с использованием 590 крыс линии Wistar, 36 мышах линии BALB-c. Клиническое исследование было выполнено с участием 42 пациентов в возрасте от 3 до 7 лет с детским церебральным параличом.

Результаты и обсуждение. По результатам экспериментов было установлено, что механизм нейропротекции при сочетанном воздействии гиперкапнии и гипоксии опосредован повышением клеточной синтетической активности [Трегуб П.П. и соавт., 2015], увеличением содержания GRP-78 и NF-κB [Трегуб П.П. и соавт., 2016], ингибированием апоптоза [Tregub PP et al., 2023], повышением содержания клеток с HIF-1α [Tregub PP et al., 2020], A1 рецепторами и митоК$^{+}_{АТФ}$-каналами в области ишемического/гипоксического повреждения [Tregub PP et al., 2022] и снижением проницаемости ГЭБ [Трегуб П.П. и соавт., 2021]. При этом фактор HIF-1α и A1 рецепторы, подвержены преимущественному влиянию гипоксического стимула, а фактор NF-κB и избирательная проницаемость ГЭБ модулируются, главным образом, гиперкапнией.

Впервые показано, что ежедневные гиперкапнически-гипоксические воздействия увеличивают резистентность организма к острой гипоксии пропорционально количеству и длительности сеансов воздействия, а эпизоды реоксигенации не оказывают влияния на резистентность [Куликов В.П. и соавт., 2015]. При этом фармакологическое потенцирование в комбинации с ингибитором АПФ может повышать эффективность респираторных тренировок с интермиттирующей гиперкапнической гипоксией [Куликов В.П. и соавт., 2021]. Клинические результаты, показали, что респираторные тренировки с гиперкапнической гипоксией оказывают позитивное влияние на функциональное состояние нервной системы у пациентов с детским церебральным параличом и могут применяться как средство увеличения эффективности стандартной терапии для этих пациентов [Kulikov VP et al., 2022].

Заключение. Гипотеза, сформулированная в отношении механизма взаимного потенцирования нейропротекторных эффектов гиперкапнии и гипоксии, подтверждается данными о молекулярно-клеточных механизмах при их сочетанном интермиттирующем воздействии. При этом, большинство механизмов, участвующих в формировании толерантности головного мозга к ишемии, обусловлено вкладом как избытка углекислоты, так и дефицита кислорода (Рисунок 1). Однако, некоторые сигнальные системы связаны с преобладанием только одного из компонентов воздействия гиперкапнической гипоксии. Например, такие молекулы, как HIF-1α и A1 рецепторы, подвержены преимущественному влиянию гипоксического стимула, а фактор NF-κB и поддержание селективной проницаемости ГЭБ модулируются, главным образом, гиперкапнией.

Рисунок 1. Потенцирование нейропротекторных механизмов при воздействии гиперкапнии и гипоксии. Стрелками обозначены направления обнаруженных эффектов избытка CO_2 и дефицита O_2: красные линии – ингибирование; зеленые линии – активация/индукция двумя факторами; синие линии - активация/индукция только одним фактором.

Немаловажным является тот факт, что углекислота, может оказывать ограничительный эффект на гипоксическую активацию таких защитных механизмов как А1 рецепторы и транскрипционный фактор HIF-1α. Можно предположить, что эта особенность позволяет тканям достигать большей толерантности к ишемии/гипоксии на организменном уровне и продлевать адаптационные изменения на долгий срок.

Установленные молекулярно-клеточные механизмы создают основу для разработки эффективных методов дыхательных тренировок, повышающих неспецифическую резистентность организма и толерантность головного мозга к ишемии, а также использования метода фармакологического потенцирования нейропротекторного эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li, G., Effect of intermittent hypoxic training on hypoxia tolerance based on brain functional connectivity. / G. Li, N. Zhang, X. Chen [et al.] // Physiol Meas. – 2016. - № 37. – P. 2299–2316.

2. Rybnikova, E.A., Intermittent Hypoxic Training as an Effective Tool for Increasing the Adaptive Potential, Endurance and Working Capacity of the Brain / E.A. Rybnikova, N.N. Nalivaeva, M.Y. Zenko [et al.] // Front Neurosci. - 2022. - № 16. – P. 941740.

3. Tao, T. Therapeutic hypercapnia improves functional recovery and attenuates injury via antiapoptotic mechanisms in a rat focal cerebral ischemia/reperfusion model. / T. Tao, Y. Liu, J. Zhang [et al.] // Brain Res. – 2013. - № 1533. – P. 52-62.

4. Pruimboom, L. Intermittent living: the use of ancient challenges as a vaccine against the deleterious effects of modern life - A hypothesis. / L. Pruimboom, F.A.J. Muskiet. // Med Hypotheses. – 2018. – № 120. – P. 28-42.

5. Tregub, P. Tolerance to acute hypoxia maximally increases in case of joint effect of normobaric hypoxia and permissive hypercapnia in rats. / P. Tregub, V. Kulikov, A. Bespalov. // Pathophysiology. – 2013. - Vol. 20, №3. – P. 165-170

6. Tregub, P. Combined exposure to hypercapnia and hypoxia provides its maximum neuroprotective effect during focal ischemic injury in the brain. / P. Tregub, V. Kulikov, Y. Motin [et al.] // J Stroke Cerebrovasc Dis. – 2015. - Vol. 24, №2. – P. 381-387.

7. Obrenovitch, T.P. Molecular Physiology of Preconditioning-Induced Brain Tolerance to Ischemia. / T.P. Obrenovitch. // Physiol Rev. – 2008. - Vol. 88, - №1. – P. 211-247.

8. Koch, S. Biomarkers for ischemic preconditioning: finding the responders. / S. Koch, D. Della-Morte, K.R. Dave [et al.] // J Cereb Blood Flow Metab. – 2014. – Vol. 34, №6. – P. 933-941.

9. Sisalli, M.J. Novel Cellular Mechanisms for Neuroprotection in Ischemic Preconditioning: A View from Inside Organelles. / M.J. Sisalli, L. Annunziato, A. Scorziello // Front Neurol. – 2015. – Vol. 26, №6. – P. 115.

10. Koizumi, S. Ischemic Tolerance Induced by Glial Cells. / S. Koizumi, Y. Hirayama // Neurochem Res. – 2022. - Vol. 47, №9. – P.2522-2528.

11. Трегуб, П.П. Пролиферативная и синтетическая активность нервных клеток после сочетанного и изолированного воздействия гипоксией и гиперкапнией / П.П. Трегуб, В.П. Куликов, Н.Ю. Ручейкин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. - Том 159, №3. – С. 311-313.

12. Трегуб, П.П. Стресс эндоплазматического ретикулума нейронов при инсульте максимально ограничивается сочетанием гиперкапнии и гипоксии. / П.П. Трегуб, В.П. Куликов, Ю.Г. Мотин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. - №4. - С.457-461.

13. Tregub, P.P. Permissive Hypercapnia and Hypercapnic Hypoxia Inhibit Signaling Pathways of Neuronal Apoptosis in Ischemic/Hypoxic Rats. / P.P. Tregub, N.A. Malinovskaya, E.D. Osipova [et al.] // Molecular Biology Reports. - 2023. - Vol. 50, №3. – P. 2317-2333.

14. Tregub, P.P. Hypercapnia potentiates HIF-1α activation in the brain of rats exposed to intermittent hypoxia. / P.P. Tregub, N.A. Malinovskaya, A.V. Morgun [et al.] // Respiratory Physiology & Neurobiology. – 2020. - №278. – P. 103442.

15. Tregub, P.P. Hypercapnia modulates the activity of adenosine A1 receptors and mitoK+ATP-channels in rat brain when exposed to intermittent hypoxia. / P.P. Tregub, N.A. Malinovskaya, E.D. Osipova [et al.] // NeuroMolecular Medicine. – 2022. – Vol.24, №2. – P. 155-168.

16. Трегуб, П.П. Гиперкапния и ее сочетание с гипоксией снижают проницаемость гематоэнцефалического барьера у крыс. / П.П. Трегуб, Н.А. Малиновская, В.П. Куликов, Д.А. Кузовков // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2021. - Т. 65, №2, - С. 30-36.

17. Куликов, В.П. Оптимальные параметры воздействия гиперкапнической гипоксии для увеличения резистентности к острой гипоксии. / В.П. Куликов, И.С. Осипов, П.П. Трегуб // Авиакосмическая и экологическая медицина, - 2015, - №5. – С. 25-28.

18. Куликов, В.П. Потенцирование защитного эффекта гиперкапнической гипоксии при комбинации с фармакологическими нейропротекторами. / В.П. Куликов, Л.А. Каланова, П.П. Трегуб // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, - 2021, - №3, - С. 21 -25.

19. Kulikov, V.P. Hypercapnic-hypoxic breathing exercises are effective in the rehabilitation of children with spastic cerebral palsy. / V.P. Kulikov, P.P. Tregub, D.V. Parshin [et al.] // Neurological Research, 2022, Vol. 44, №8. – P. 738-747.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЯДОВИТЫХ СВОЙСТВ β-АМАНИТИНА – ПЕПТИДНОГО ТОКСИНА МАКРОМИЦЕТОВ

А.А. Ховпачев

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

Аннотация. Экспериментальное исследование β-аманитина – гепатотропного токсина грибов, вызывающих тяжёлые пищевые интоксикации, направлено на совершенствование химической и биологической безопасности. Исследование было выполнено на белых крысах и мышах и состояло из двух этапов, связанных с оценкой острой токсичности пептида и изучением морфологических и лабораторных сдвигов вследствие реализуемого им токсического процесса. Установлены средние смертельные дозы β-аманитина при различных способах введения и дозовая зависимость его влияния на продолжительность жизни животных. Интоксикация β-аманитином инициировала множественную органную дисфункцию в основе которой лежали гепатаргия с цитолизом, холестазом и печёночно-клеточной синтетической недостаточностью, повреждение почек, миокардит, пневмония и некротический энтерит.

Ключевые слова: β-аманитин, гепатотоксичность, некроз, фаллоидиновый синдром.

Введение. Из числа пищевых отравлений макромицетами, то есть грибами, чьи плодовые тела видны невооружённым глазом (шифр МКБ-10: T62.0), около 90 % летальных исходов приходится на фаллоидиновый синдром. Интоксикации подобного рода сопряжены с развитием фульминантной печеночной недостаточности, протекают тяжело, с неспецифичной клинической картиной и трудно поддаются лечению. В России данное состояние встречается довольно часто [1]. Уровень смертности, несмотря на достижения в области интенсивной терапии, остаётся высоким, варьируя в специализированных стационарах от 8,7 до 30 % [2]. Среди средств этиотропной терапии, по большей части, представлены соединения, потенциал которых был доказан лабораторно, однако в реальных условиях они малоэффективны. Поэтому к жизнеспасающим мероприятиям при фаллоидиновом синдроме относят ургентную пересадку печени, потребность которой в случаях средней и тяжёлой степени интоксикации составляет от 60 до 94 %, и MARS-терапию как трансплантационный мост. В то же время, по ряду причин эти методы не всегда доступны, а пятилетняя выживаемость перенесших трансплантацию пациентов не превышает 37 %, что определяет потребность в дальнейшем совершенствовании средств фармакологической коррекции [3].

Ведущая роль в реализации токсического процесса при фаллоидиновом синдроме

принадлежит аманитотоксинам. Аманитотоксины относят к нарушающим биосинтез белка цитотоксинам отсроченного действия. Молекулярный механизм их влияния на биосинтез белков заключён в ингибировании работы ДНК-зависимой РНК-полимеразы II типа – фермента, ответственного за полимеризацию гетерогенной ядерной РНК в процессе трансляции. Обусловливающая гепатаргию тропность токсинов опосредована специфическим для гепатоцитов органическим анион-транспортирующим полипептидом 1B3. Среди семи известных аманитотоксинов одним из первично-зрелых, и как следствие накапливающимся в наибольшем количестве в пределах плодовых тел грибов, считают β-аманитин [4].

Высокая токсичность β-аманитина с одной стороны, и явно недостаточное знание о токсическом действии – с другой, а также связанное с этими обстоятельствами отсутствие средств эффективной терапии интоксикаций, делают актуальным его всестороннее экспериментальное исследование. Вместе с тем комплексные исследования токсичности малоизвестных ядовитых соединений в составе пищевых продуктов, интоксикации которыми протекают тяжело, составляет неотъемлемую часть системного подхода в совершенствовании химической и биологической безопасности [1]. Таким образом, цель настоящего исследования состояла в экспериментальном изучении свойств β-аманитина по токсикологическим, морфологическим и лабораторным критериям.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 70 нелинейных крысах-самцах массой 200–250 г и 300 нелинейных мышах-самцах массой 20–25 г. В ходе исследования соблюдали требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним.

Исследование было поделено на два этапа. На первом этапе оценивали острую токсичность β-аманитина для мышей и крыс при внутривенном (в/в), внутрибрюшинном (в/б) и внутрижелудочном (в/ж) введении. На втором этапе была выполнена морфологическая и лабораторная оценка токсичности пептида для крыс при в/в введении.

Для исследований использовали субстанцию β-аманитина (CAS 21150-22-1, Sigma-Aldrich, США) с содержанием основного вещества не менее 97 %. Маточный раствор готовили *ex tempore* путём разведения субстанции токсина в забуференном физиологическом растворе с pH=7,4 (физраствор) в концентрации 3 мг/мл. Грызунам контрольных групп физраствор вводили в аналогичном объёме и тем же путём, что и β-аманитин животным опытных групп.

На первом этапе у грызунов после введения токсина ежедневно оценивали общее состояние: внешний вид, поведение, потребление воды и пищи, массу тела. За животными наблюдали в течение 30 сут. Гибель животных регистрировали посредством камеры Hiwatch DS-I114W с пакетом прикладного программного обеспечения (ПО) для сохранения и просмотра видеозаписей на персональном компьютере (Hikvision, КНР).

На втором этапе была выполнена оценка морфологических и лабораторных изменений у крыс на 7 сут после в/в введения пептида в средней смертельной дозе ($ЛД_{50}$). Забор крови выполняли из забрюшинных сосудов после наркотизации золетилом (Valdepharm, Франция) в дозе 0,8 мл/кг, забор внутренних органов – после эвтаназии тем же препаратом в дозе 2 мл/кг.

Для изучения морфологических изменений выполняли аутопсию крыс с последующим гистопатологическим исследованием их внутренних органов, в объёме рекомендуемом при изучении свойств цитотоксикантов [5]. Препараты головного мозга, сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы, селезёнки, почек, надпочечников, тонкой кишки, лимфатических узлов различных групп и яичек делали по стандартной методике приготовления гистологических препаратов, окрашивали их гематоксилином и эозином [6].

Для изучения лабораторных сдвигов вследствие интоксикации выполняли гематологический и биохимический анализы крови, оценку ее кислотно-основного и газового состава [7]. В гемограммах оценивали количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, концентрацию гемоглобина в эритроците, содержание тромбоцитов, тромбокрит и лейкоцитарную формулу. В биохимическом анализе определяли концентрацию общего белка, альбумина, глюкозы, общего и прямого билирубина, холестерина, мочевины, креатинина, калия, натрия, а также активность α-амилазы, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, γ-глутамилтранспептидазы. В анализе кислотно-основного и газового состава артериальной крови определяли показатель кислотности (pH), парциальное давление кислорода (paO_2), сатурацию гемоглобина кислородом (SaO_2), парциальное давление углекислого газа ($paCO_2$), концентрацию стандартного бикарбоната (HCO_3^-), дефицит оснований (BE), лактат.

Статистический анализ результатов проводили при помощи ПО Statistica 10.0. Для определения $ЛД_{50}$ использовали метод пробит-анализа по Финни. Среднюю смертельную дозу представляли в виде M±SE, где M – среднее, SE – стандартная ошибка. Полученные величины $ЛД_{50}$ сравнивали при помощи двухстороннего t-критерия Стьюдента. Отношение эквивалентных доз с их ошибкой выявляли по алгоритму, предложенному Криштопенко и Тиховым [8]. Различия в продолжительности жизни определяли посредством критерия Гехана-Вилкоксона. Оценку зависимости продолжительности жизни от величины дозы выполняли посредством нелинейного регрессионного анализа. Количественные показатели анализировали посредством непараметрического критерия Манна-Уитни. Данные представлены в виде Me [Q_{25}; Q_{75}], где Me – медиана, Q_x – соответствующий квартиль. Вывод о статистической значимости альтернативной гипотезы принимали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Аманитин обладал выраженными ядовитыми свойствами как для крыс, так и для мышей.

$ЛД_{50}$ β-аманитина для мышей при в/в введении составила 0,27 ± 0,08 мг/кг, а при в/б – 0,69 ± 0,18 мг/кг. Таким образом барьерный коэффициент брюшина/вена достигал 2,6 ± 1,01 (p=0,0048), что позволяло судить о сохранении высокого уровня биодоступности токсина у мышей при изменении способа поступления. При в/ж введении $ЛД_{50}$ β-аманитина составила 2,75 ± 0,39 мг/кг – барьерный коэффициент желудок/вена был более значим и составлял 10,6 ± 3,22 (p < 0,0001).

Увеличение дозы токсина приводило к снижению продолжительности жизни мышей. Для более полного раскрытия данной зависимости, серия исследований была дополнена в/в введением β-аманитина в дозах 2, 4 и 6 мг/кг. При введении возрастающего количества пептида время жизни мышей сокращалась с 7 до 1 сут за счёт повышения частоты и интенсивности гепатаргических судорог. Так при поступлении β-аманитина в дозе 0,5 мг/кг (1,8 $ЛД_{50}$) гибель мышей наступала в пределах 164,5 [99; 188,2] ч. Увеличение дозы токсина до 2 мг/кг (7,4 $ЛД_{50}$) приводило к сокращению срока гибели животных до 56 [48; 63,2] ч, до 6 мг/кг (22 $ЛД_{50}$) – до 25,5 [24,2; 33,5] ч.

Посредством регрессионного анализа была выявлена зависимость между дозой токсина и продолжительностью жизни мышей. Связь значения срока гибели от дозы β-аманитина в диапазоне до 6 мг/кг носила характер обратной логарифмической зависимости и могла быть описана функцией (1):

$$T = 122 - 54 \times \ln D, \quad (1)$$

$$T = 122 - 54 \times \ln D,$$

где T – ожидаемая продолжительность жизни мышей, ч;

D – доза токсина при в/в введении, мг/кг.

Расчётное значение F-критерия Фишера для выведенного уравнения составило 37,4 против табличного 7,01 при p = 0,01. Согласно коэффициенту детерминации – R^2 = 0,65, полученная модель имела среднее практическое значение.

Токсичность β-аманитина для крыс при в/в введении составила $ЛД_{50}$ = 0,72 ± 0,09 мг/кг, а при в/б – 0,95 ± 0,15 мг/кг, снижаясь в 1,3 ± 0,27 раза (p = 0,043). Вместе с тем пептид был менее токсичен для крыс по сравнению с мышами.

Гибель животных наблюдали в пределах 14 сут от начала исследования. Интоксикация вызывала дозо-зависимые изменения пищевого поведения, внешнего вида, потерю в массе тела, геморрагические явления, депримацию и судороги, отражавшие тяжесть их состояния. Так после введения крысам пептида в дозе $ЛД_{50}$ (0,72 мг/кг) потеря их массы к 5–6 сут достигала 40 % от исходной величины. Наблюдали развитие хромодакриорреи из гардеровых желёз, кровоточивость из деэпителизированных участков кожного покрова.

При введении $ЛД_{50}$ продолжительность жизни крыс составила 176 [144; 220] ч. Поскольку

этот период соответствовал наибольшей выраженности токсического процесса, на втором этапе исследования срок забора биоматериала составил 7 сут.

При внешнем осмотре крыс, выведенных из эксперимента на 7 сут после начала интоксикации β-аманитином в дозе $ЛД_{50}$ (опытная группа), отмечали выраженную атрофию мышц с контурированием костных ориентиров. На аутопсии выявляли желтушность серозных оболочек и обеднение жировой прослойки внутренних органов. У большинства животных наблюдали вздутие опорожненного желудка, секвестрацию в тонкой кишке желтоватой мутной жидкости. На висцеральной брюшине кишки отмечали единичные точечные геморрагии.

В ходе микроскопии стандартно окрашенных гематоксилином и эозином препаратов внутренних органов крыс опытной группы наблюдали выраженные альтеративные изменения в печени, почках, головном мозге, лёгких, сердце, кишке, поджелудочной железе и железах внутренней секреции. Вместе с тем в препаратах тимуса, селезёнки и яичек выявляли только сосудистые и реологические изменения в отсутствие значимых повреждений паренхимы и эпителиальной выстилки. У контрольных животных, получавших вместо токсина физраствор, все органы были с нормальной архитектоникой, либо с минимальными изменениями.

Выявляемые сосудистые изменения в различных органах животных опытной группы носили сходный характер. Так, крупные и средние сосуды мышечного типа были паралитически расширены и полнокровны. Сосуды микроциркуляторного русла характеризовало запустевание. Наблюдали спазм артериол и артерий малого калибра. Вены были переполнены кровью с наличием агрегатов эритроцитов и свободных тромботических масс. Последние особенно хорошо были видны в печени и лёгких. В кишке выявляли диапедез.

Аманитин вызывал у крыс центро- и мультилобулярный некроз печени с нарушением балочно-радиарного строения долек и без клеточной реакции. Прослеживали чёткую зональность повреждений. Центральная зона долек была исполнена гомогенными массами тканевого детрита, окаймлённого некротичными гепатоцитами. Гепатоциты перипортальной зоны характеризовала вакуольно-зернистая белковая, либо мелкокапельная жировая дистрофии.

При оценке поражений почек выявляли признаки острого тубуло-интерстициального повреждения. Обнаруживали гомогенизированные некрозы клубочков и собирательных канальцев в отсутствии клеточной реакции. В просвете расширенных капсул Шумлянского-Боумена наблюдали клеточный детрит, сморщенные ядра уротелия и фибриноидный некроз. В просветах сохранных канальцев встречали зернистые цилиндры. Полученные сдвиги могли быть следствием как известного для аманитотоксинов нефротоксического действия, так и развития шока, в пользу которого свидетельствовали установленные дистрофические изменения хромаффинных клеток надпочечников.

Изменения в головном мозге укладывались в отёк вазогенного и цитотоксического

характера. Выраженность отёка и повреждений нейронов варьировала в различных зонах мозга. Наибольшие повреждения наблюдали в коре полушарий, подкорковых узлах и гиппокампе, мозжечке и продолговатом мозге. Глубина установленных структурных изменений головного мозга указывала на отёк мозга как один из ведущих патологических процессов, реализуемых β-аманитином в условиях развития острой гепатаргии, сердечной и почечной недостаточности.

В этой связи вполне очевидной представлялась роль дозовой зависимости в установленном ускорении развития гепатаргических судорог и сокращении продолжительности жизни мышей. Нарушение барьерной функции печени как органа, содержащего до 80 % фиксированных макрофагов и основного места метаболического клиренса продуктов бактериального обмена: аммиака, ароматических аминов, короткоцепочечных полипептидов, ненасыщенных жиров и т.д., ведёт к эндотоксемии. Эндотоксины подобного рода церебротоксичны и играют важную роль в развитии печёночной комы, истощая энергетические запасы мозга. В конечном итоге энергодефицит сопряжён с увеличением образования возбуждающих аминокислот, таких как аспартат и глутамат, инициирующих судороги [9].

В препаратах левого желудочка сердца наблюдали диффузное поражение мышцы с признаками острого очагового межуточного миокардита. Причины и механизмы установленного диффузного повреждения миокарда могли быть сопряжены как с глубокими метаболическими сдвигами, так и со вторичной патологией из-за поражения смежных органов: пневмонией, всегда сопутствовавшей миокардиту и коррелировавшей ему по интенсивности, цереброкардиальным синдромом, обусловленным отёком головного мозга, гипотиреозом на фоне истощения.

В тонкой кишке выявляли некротический энтерит с поражением вегетативного нервного аппарата, утолщением собственной пластинки и мышечного слоя, распространённой атрофией и денудацией слизистой оболочки. Выраженность повреждений кишки при в/в поступлении пептида позволила судить о наличии известного для токсикокинетики аманитотоксинов процесса гепато-энтеральной рециркуляции.

При микроскопии желёз внутренней секреции установлены сдвиги, ведущие к нарушению эндокринного баланса. В надпочечниках изменения затрагивали мозговое вещество и сетчатую зону коркового вещества. Наблюдали вакуольную и крупно-среднекапельную жировую дистрофию эпителия. В поджелудочной железе отмечали дисхромию экзокринных элементов, сморщивание эндокринных клеток инсулярного аппарата, повышенное число их некробиозов. В щитовидной железе выявляли признаки умеренной гипофункции в виде уплощения фолликулярного эпителия при наличии коллоидного содержимого.

Интоксикация β-аманитином в дозе $ЛД_{50}$ сопровождалась на 7 сут существенными сдвигами в общем и биохимическом анализах крови, а также в её газовом составе.

В гемограмме у опытных животных наблюдали признаки обезвоживания в виде

повышения концентрации гемоглобина, гематокрита и абсолютного числа эритроцитов. Наблюдали прирост общего числа лейкоцитов в 1,7 раз (таблица 1).

Таблица 1. Гематологические показатели крови крыс на 7 сут после в/в введения β-аманитина в дозе $ЛД_{50}$ (0,72 мг/кг, Me [Q_{25}; Q_{75}], n=10)

Показатель, ед. измерения	Контроль	β-аманитин
Гемоглобин, г/л	139,5 [134,5; 146,8]	160 [154,2; 165,2] **
Гематокрит, %	40,0 [36,5; 42,7]	47,5 [44,0; 48,4] **
Эритроциты, $\times 10^{12}$/л	6,8 [6,2; 7,1]	7,7 [7,6; 8,3] *
Лейкоциты, $\times 10^{9}$/л	8,1 [7,52;8,6]	13,2 [9,27; 15,4] **
Нейтрофилы, $\times 10^{9}$/л	1,18 [0,99; 1,62]	3,04 [2,4; 4,0] ***
Лимфоциты, $\times 10^{9}$/л	5,98 [5,51; 6,87]	7,67 [7,11; 10,38] *
Моноциты, $\times 10^{9}$/л	0,27 [0,24; 0,37]	0,54 [0,35; 0,78]
Базофилы, $\times 10^{9}$/л	0,23 [0,14; 0,26]	0,26 [0,20; 0,34]
Эозинофилы, $\times 10^{9}$/л	0,12 [0,1; 0,15]	0,17 [0,12; 0,21]
Тромбоциты, $\times 10^{9}$/л	555,0 [490,0; 603,8]	429,0 [382,5; 540,0]

Примечание: различие с группой «контроль» значимо по критерию Манна-Уитни – * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

В биохимическом анализе крови у крыс опытной группы обнаруживали отражавший интенсивность цитолиза многократный прирост активности аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы. Наблюдали существенный подъем содержания продуктов желчного обмена за счёт неконьюгированного билирубина, что характерно для печёночных желтух. Выявляли также характерные для холестаза трёхкратный прирост щелочной фосфатазы и двадцатикратный прирост γ-глютамилтранспептидазы.

У опытных крыс развивались значительные нарушения белкового обмена – наблюдали снижение концентрации общего белка и альбумина в 1,5 раза. Эти сдвиги могли быть обусловлены как нарушением пищеварения поражённой кишкой, то есть алиментарным истощением, так и снижением продуцируемых гепатоцитами пула функциональных белков, то есть кахексией. Наблюдали четырёхкратный прирост концентрации молочной кислоты. Также выявляли повышенное накопление продуктов азотистого обмена – мочевины в 4,5 раза, креатинина в 5 раз. Электролитные сдвиги выражались умеренным повышением концентрации натрия, что укладывалось в контекст обнаруживаемого обезвоживания (таблица 2).

В газовом анализе артериальной крови в опытной группе в 100 % наблюдали ацидемию, которая варьировала от выраженной до запредельной. В основе этого лежал метаболический лактат-ацидоз с недостаточно эффективной респираторной компенсацией. Так обнаруженной гиперлактатемии сопутствовала депрессия буферных оснований и бикарбоната, тенденция к компенсационной гипокапнии. Однако полученные значения истинного бикарбоната были выше

ожидаемых для данного уровня напряжения углекислого газа. Подобная закономерность свидетельствует о подостром характере ацидоза и запуске почечного механизма его компенсации (таблица 3).

Таблица 2. Показатели биохимического анализа крови крыс на 7 сут после в/в введения β-аманитина в дозе $ЛД_{50}$ (0,72 мг/кг, Me [Q_{25}; Q_{75}], n=10)

Показатель, ед. измерения	Контроль	β-аманитин
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	58,0 [40,2; 73,1]	595,0 [424,5; 936,7] ***
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	148,0 [102,7; 215,5]	744,5 [521;884,2] ***
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	486 [347; 564]	1217 [991; 1378] ***
Щелочная фосфатаза, Ед/л	410 [341; 733]	1256 [950; 1488] ***
γ-глютамилтранспептидаза, Ед/л	0 [0; 0]	21,0 [13,15; 50,5] ***
α-амилаза, Ед/л	518,5 [342,7; 741,4]	658,0 [548,5; 846,8]
Билирубин общий, μM	3,62 [3,05; 5,29]	31,75 [17,53; 44,52] ***
Билирубин прямой, μM	1,83 [1,14; 3,41]	11,35 [9,65; 12,30] **
Холестерин, мМ	1,12 [1,07; 1,2]	1,3 [1,05; 1,39]
Глюкоза, мМ	6,15 [4,31; 8,3]	5,21 [3,6; 6,7]
Белок общий, г/л	62,3 [58,5; 70,9]	44,0 [42,2;51,7] ***
Альбумин, г/л	47,8 [44,5; 51,9]	30,2 [29,2; 35,6] ***
Мочевина, мМ	4,3 [3,6; 5,1]	18,1 [16,5; 28,3] ***
Креатинин, μM	42,4 [31,0; 55,1]	227,5 [186,9; 573,5] ***
Натрий, мМ	142,0 [135,3; 143,7]	150,0 [144,5; 152,0] **
Калий, мМ	3,9 [2,21; 4,05]	4,7 [3,15; 5,1]
Примечание: различие с группой «контроль» значимо по критерию Манна-Уитни ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.		

Таблица 3. Газовый и кислотно-основный состав артериальной крови крыс на 7 сут после в/в введения β-аманитина в дозе $ЛД_{50}$ (0,72 мг/кг, Me [Q_{25}; Q_{75}], n=10)

Показатель, ед. измерения	Контроль	β-аманитин
pH	7,35 [7,24; 7,39]	7,12 [7,00; 7,18] **
$paCO_2$, мм рт. ст.	39,1 [36,5; 42,7]	31,5 [28,2; 34,4] *
paO_2, мм рт. ст.	95,5 [94,2; 98,5]	95,0 [90,2; 98,1]
SaO_2, %	98,5 [97,2; 99,0]	96,5 [94,4; 97,8]
BE, мМ	-2,15 [-3,25; -0,27]	-11,1 [-15,42; -9,12] **
HCO_3^-, мМ	19,1 [18,7; 20,6]	14,6 [12,3; 16,4] **
Лактат, мМ	3,1 [2,8; 3,9]	12,3 [10,5; 16,8] ***
Примечание: различие с группой «контроль» значимо по критерию Манна-Уитни * – $p < 0,05$;** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.		

Заключение. Резюмируя изложенное, в исследовании было показано, что β-аманитин высокотоксичен для грызунов и приводит к целому спектру патологических состояний, трактуемых как множественная органная дисфункция. В основе последней лежали алиментарно-белковое истощение и кахексия, мультилобулярный некроз печени с цитолизом, холестазом, печёночно-клеточной синтетической недостаточностью и персистирующей гиперлактатемией, повреждение почек со снижением скорости клубочковой фильтрации, миокардит с признаками развития токсического шока, пневмония, гепатаргический отёк головного мозга, некротический энтерит с нарушением барьерной, секреторно-резорбтивной и моторно-эвакуаторной функций. Широкий спектр выявленных сдвигов складывался как из неспецифических изменений в ответ на нарушенную работу гепатоцитов как первичного эффектора токсина, так и из прямого цитотоксического повреждения других органов, связанного с потерей его тканевой избирательности при высокой концентрации *in situ* [4]. При этом важная роль в реализации химической травмы принадлежала не простой суммации повреждений нескольких органов, а их комбинации в виде синдрома взаимного отягощения, сущность которого заключена в формировании качественно нового состояния [10].

Полученная таким образом крайне тяжёлая картина интоксикации у животных может быть рассмотрена с позиции экспериментальной модели для изучения патогенеза и изыскания средств токсикологического пособия при отравлениях аманитинсодержащими грибами в интересах совершенствования химической и биологической безопасности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральные клинические рекомендации: токсическое действие других ядовитых веществ, содержащихся в съеденных грибах / Русскоязычное токс. общество [Электронный ресурс]. – 2023. – URL: http://www.toxrus.ru/node/49. – (дата обращения: 10.12.2023).

2. De Olano J., Wang J., Villeneuve E. et al. Current fatality rate of suspected cyclopeptide mushroom poisoning in the United States // Clin. Toxicol. – 2020. – V. 59, № 1. – P. 24–27.

3. Ховпачев А.А., Башарин В.А., Чепур С.В. Фаллоидиновый синдром: механизмы токсичности, актуальные направления токсикокинетической и токсикодинамической терапии // Medline.ru. – 2020. – Т. 21, № 1. – С. 768–798.

4. Walton J. The Cyclic peptide toxins of *Amanita* and other poisonous mushrooms. – Cham: Springer Int. Publ., 2018. – 231 p.

5. Коптяева К.Е., Мужикян А.А., Гущин Я.А. и др. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных (крысы) // Лаб. животные науч. иссл. – 2018. – № 2. – С. 71–92.

6. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии / Ред. Д.Э. Коржевский. – СПб: СпецЛит, 2013. – 127 с.

7. Лабораторные методы диагностики неотложных состояний / Ред. Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2002. – С. 255–294.

8. Криштопенко С.В, Тихов М.С. Токсикометрия эффективных доз. – Н. Новг.: [б.и.], 1997. – 155 с.

9. Стрекалова О.С., Учайкин В.Ф., Ипатова О.М. и др. Коматозные состояния : Этиопатогенез, экспериментальные исследования, лечение гепатической комы // Биомед. химия. − 2009. − Т. 55, № 4. − С. 380–396.

10. Повзун С.А. Важнейшие синдромы: патогенез и патологическая анатомия. – СПб.: ООО ИПК «КОСТА», 2009. – 480 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БЕТА-СИНУКЛЕИНА В НОРМАЛИЗАЦИИ ФУНКЦИИ НИГРОСТРИАРНОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ПРИЖИЗНЕННОЙ ИНАКТИВАЦИИ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В НЕЙРОНАХ ВЗРОСЛЫХ И СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ

К.Д. Чапров*, к.б.н., н.с. лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов

Институт физиологически активных веществ Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук

**e-mail*: chaprov@ipac.ac.ru

Белок альфа-синуклеин является основным компонентом телец Леви – патологических включений, обнаруживаемых в аутопсийном материале пациентов при Болезни Паркинсона (БП) и других нейродегенеративных заболеваниях, объединенных в группу протеинопатий [1]. Высокая социальная значимость протеинопатий определяет острую необходимость в исследованиях патогенеза для разработки эффективных методов лечения. Этиология и патогенез БП тесно связаны с усилением функции альфа-синуклеина, участвующего во многих важных этапах нейротрансмиссии [2]. Альфа-синуклеин локализован преимущественно в пресинаптических окончаниях и играет роль в регуляции высвобождения нейромедиаторов, синаптической функции и пластичности [3]. Постепенное накопление агрегатов альфа-синуклеина в дофаминергических нейронах зоны черной субстанции приводит к истощению функционального пула данного белка и, следовательно, создает условия потери функции, особенно в пресинаптических терминалях этих нейронов. Исследования того, как это позднее истощение белка, способствует прогрессированию БП и, в частности, усугублению нигростриарной патологии на поздних стадиях заболевания, ограничены, а полученные данные противоречивы [4]. Помимо альфа-синуклеина в семейство белков-синуклеинов включены еще два гомологичных члена: бета- и гамма-синуклеин, имеющих схожую структуру и синаптическую локализацию. В некоторых исследованиях предполагается, что бета-синуклеин препятствует агрегации альфа-синуклеина, облегчая взаимодействие альфа-синуклеина с мембранами [5]. Ранее было показано что в синапсе бета-синуклеин способствует оптимизации захвата дофамина синаптическими везикулами, но данный эффект проявляется только в отсутствии других членов семейства [6]. Поскольку белки данного семейства способны к частичному замещению функций, актуальной задачей является изучение комбинаторного эффекта нарушения функции отдельных синуклеинов на процесс дофаминовой нейротрансмиссии [7]. В том числе возможной частичной замены утраченной функции альфа-синуклеина при возрастных изменениях [8]. Для решения поставленных задач недавно получены новые линии мышей для прижизненного тамоксифен-индуцируемого нейронального вырезания гена, кодирующего альфа-синуклеин, для изучения

последствий истощения альфа-синуклеина в нигростриарной системе, на фоне отсутствия белка-гомолога бета-синуклеина [4, 9, 10]. Данная животная модель позволяет анализировать влияние отсутствия белка бета-синуклеина на изменение дофаминовой нейротрансмиссии, опосредованное прижизненным выключением альфа-синуклеина в период постнатального развития.

Для получения экспериментальных самцов с регулируемым нокаутом гена альфа-синуклеина на фоне отсутствия белка-гомолога бета-синуклеина скрещивали несколько линий генетическимодифицированных мышей на общем фоне C57Bl/6J (Charles River) (Рисунок 1). У самок $SNCB^{-/-}SNCA^{flox/flox}$ ген бета-синуклеина был инактивирован с рождения, а второй экзон гена альфа-синуклеина фланкирован двумя LoxP сайтами. Самцы $SNCB^{-/-}SNCA^{\Delta flox/\Delta flox}$ были нокаутны как по гену бета-синуклеина, так и альфа-синуклеина, но в геноме присутствовала трансгенная кассета, кодирующая Cre-рекомбиназу под нейрон-специфичным промотором (NSE), конъюгированная с эстрогеновым рецептором ER-T2 в гомозиготном состоянии. Таким образом после скрещивания между собой, в геноме экспериментальных животных отсутствовал бета-синуклеин, но содержался нокаутный аллель альфа-синуклеина и копия этого гена, фланкированного двумя LoxP сайтами, трансгенная кассета NSE-Cre-ER-T2 необходима регуляции процесса прижизненной рекомбинации альфа-синуклеина тамоксифеном.

Мышей содержали в виварии Центра доклинических испытаний ИФАВ РАН в стандартных условиях (12 ч цикл день/ночь, температура 19-25◦C, относительная влажность 30%-70%) без ограничений доступа к пище и воде в соответствии с «Руководством по содержанию лабораторных грызунов и кроликов» (ГОСТ 33216-2014) и согласно принципам 2010/63/EU о защите животных, используемых в научных целях, и одобренными биоэтическим коммитетом (протокол № 48, 15.01.2021).

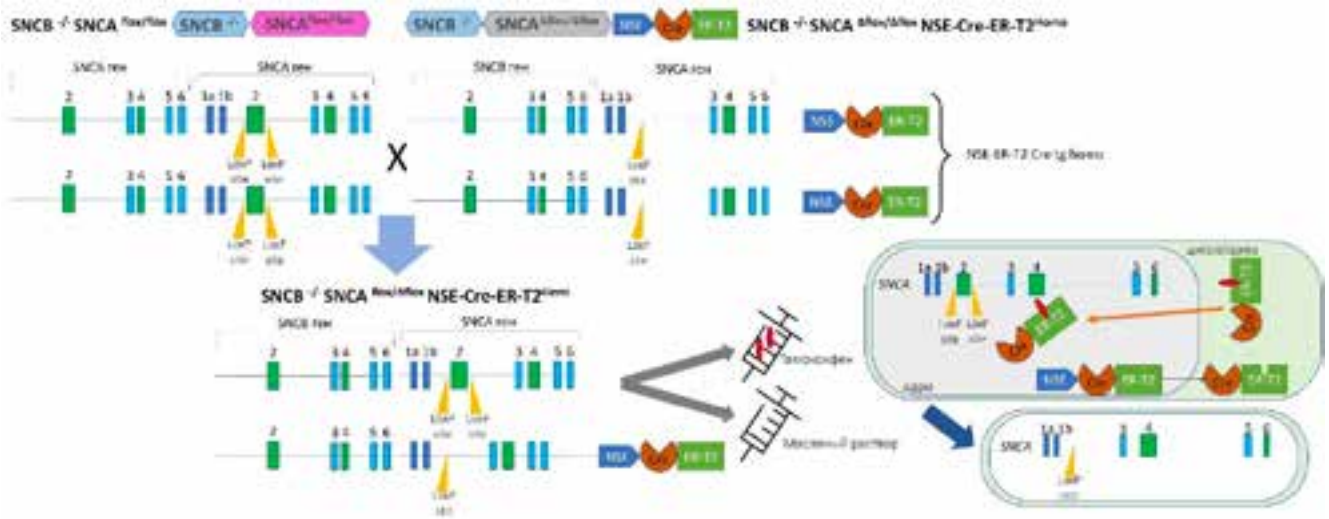


Рисунок 1. Схема получения экспериментальных животных с прижизненной регулируемой рекомбинацией локуса альфа-синуклеина и активация инъекциями тамоксифена.

Тамоксифен (Sigma-aldrich, Германия) растворяли в кукурузном масле, как было описано ранее [10]. В возрасте 6 месяцев тамоксифен в концентрации 20 мг/мл вводили внутрибрюшинно один раз в 24 часа в течение 5 последовательных дней. Через 6 и 12 месяцев (т.е. в возрасте 12 и 18 месяцев, соответсвенно) у части самцов были диссектированы дорзальные стриатумы и был измерен остаточный уровень белка альфа-синуклеина методом иммуноблоттинга с помощью антител, специфичных к мышиному альфа-синуклеину. Как показано на Рисунке 2 А, в отличие от высокого уровня альфа-синуклеина у контрольных животных (ТМХ-), в дорзальном стриатуме большинства мышей после индукции рекомбинации такоксифеном альфа-синуклеин не обнаруживается, и в этой структуре мозга животных остается только следовое количество, что может быть вызвано присутствием в данных образцах эритроцитарного альфа-синуклеина, полученного из крови. Аналогичная картина наблюдалась при оценке уровня альфа-синуклеина в дорзальном стриатуме 18-ти месячных мышей, получавших тамоксифен в возрасте 6 месяцев (Рисунок 2 А).

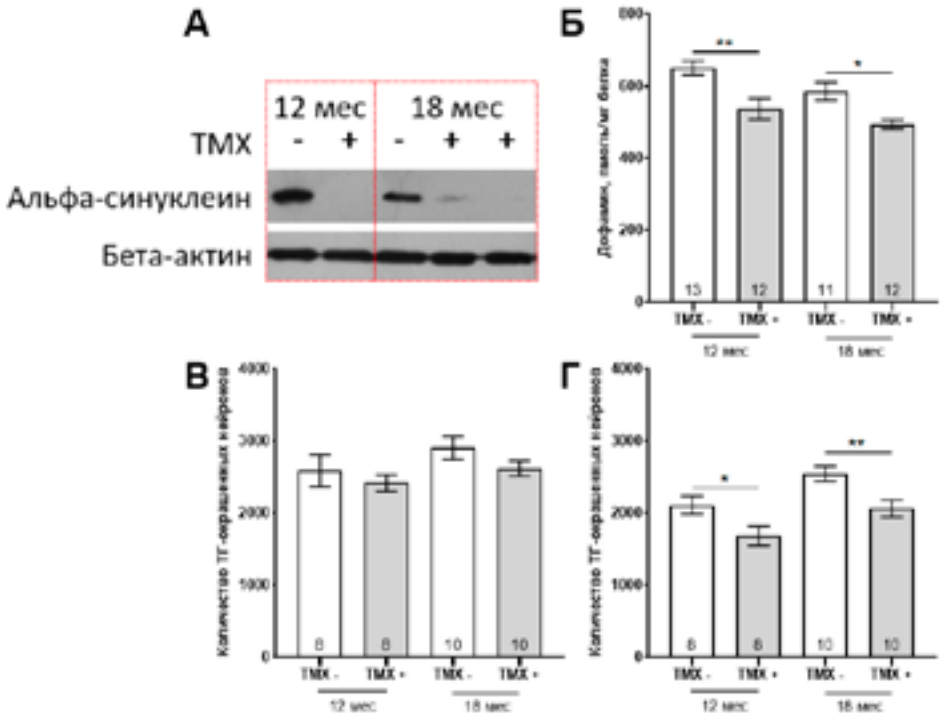


Рисунок 2. Анализ нигростриарной системы после прижизненной инактивации альфа-синуклеина в возрасте 6 месяцев. Животные, получавшие тамоксифен ТМХ + или контрольные ТМХ- анализировали в возрасте 12 и 18 месяцев.

А) Истощение белка альфа-синуклеина в дорсальном стриатуме после инактивации гена методом иммуноблоттинга с помощью высокоспецифичных антител (верхняя панель), нижняя панель – инкубация той же мембраны с антителами против бета-актина.

Б) Содержание дофамина в дорсальном стриатуме мышей было проанализировано высокоэффективной жидкостной хроматографией с электрохимической детекцией.

В-Г) Сравнительный морфометрический анализ дофаминергических (ТГ-окрашенных) нейронов в зоне черной субстанции (В) и вентральной области покрышки (Г).

На графиках представлены средние значения и стандартная ошибка среднего, количество животных указано в нижней части соответствующего столбца. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; Однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с применением критерия множественных сравнений Сидака.

Для проверки того, приведет ли процесс истощения альфа-синуклеина в нейронах пожилых животных к изменениям в их нигростриатальной системе было измерено содержание дофамина в дорсальном стриатуме 12-, и 18-месячных мышей, получавших тамоксифен в возрасте 6 месяцев, было проанализировано высокоэффективной жидкостной хроматографией с электрохимической детекцией. Наблюдалось статистически достоверное снижение уровня дофамина по сравнению с контрольными животными, после индукции рекомбинации тамоксифеном на обеих исследуемых возрастных точках (Рисунок 2 Б). Сравнительный морфометрический анализ количества дофаминергических нейронов при иммуногистохимическом окрашивании антителами к тирозингидроксилазе не выявил различий между исследуемыми группами в зоне черной субстанции (Рисунок 2 В), что свидетельствует об отсутсвии ретроградной гибели нейронов в ответ на снижение уровня дофамина в дорзальном стриатуме. Однако наблюдается достоверное снижение количества дофаминергических нейронов в зоне вентральной области покрышки у животных после инъекций тамоксифена как в возрасте 12-, так и 18-месяцев (Рисунок 2 Г). Дофаминергические нейроны вентральной области покрышки, соседней структуры среднего мозга, относительно защищены от деградации на ранних стадиях БП [11]. Эти нейроны играют ключевую роль в мезокортикальных и мезолимбических путях – функциональных сетях, отвечающих за исполнительную функцию, сигнализацию о вознаграждении и мотивацию.

Ранее было показано, возрастное истощение функционального белка альфа-синуклеина влияет на некоторые молекулярные процессы в нейрональном компартменте, где этот белок в норме наиболее распространен и играет важную роль в нейротрансмиссии, а именно в пресинаптических окончаниях, расположенных в дорсальном стриатуме. Наблюдалось отсутвие снижения количества дофаминергических нейронов в зоне черной субстанции и вентральной области покрышки на животных в присутствии бета-синуклеина и прижизненном истощении альфа-синуклеина как в возрасте 6-ти, так и 12-месяцев с последующим анализом в 14- и 18-месяцев соответсвенно [9]. Несмотря на нормальное содержание дофамина, его катаболизм в

дорзальном стриатуме 18-ти месячных мышей нарушался в результате истощения альфа-синуклеина без изменения содержания самого дофамина с возрастом [9]. Однако, в отсутствие бета-синуклеина и истощением альфа-синуклеина в 6 месяцев наблюдается как значительное снижение количества дофаминергических нейронов в зоне вентральной области покрышки, так и резкое уменьшение содержания дофамина и его метаболитов в стриатуме, что свидетельствует об отсутствии компенсаторного эффекта белка-гомолога бета-синуклеина.

Экстраполируя полученные нами результаты [9] на моделях прижизненно-регулируемого нокаута альфа-синуклеина, на потенциальную клиническую ситуацию, можно сделать предположение, что терапевтическое снижение экспрессии только альфа-синуклеина у пациентов с БП является в целом безопасным вариантом, поскольку не должно вызывать негативных побочных эффектов на функциональность их нигростриарной системы. Однако, если проводить инактивацию двух генов альфа- и бета-синуклеина у пожилых пациентов, она может вызвать значительные функциональные изменения в нигростриарной системе с потенциально нежелательным аддитивным эффектом к уже существующей патологии.

Работа была поддержана грантом Российского Научного Фонда № 23-24-00450.

ЛИТЕРАТУРА

1. Upcott M., Chaprov K.D., Buchman V.L. Toward a disease-modifying therapy of alpha-synucleinopathies: new molecules and new approaches came into the limelight. Molecules. – 2021. – V. 26(23). – P. 7351.

2. Masliah E., Rockenstein E., Veinbergs I., Mallory M., Hashimoto M., Takeda A., Sagara Y., Sisk A., Mucke L. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. Science. – 2000. – V. 287(5456). – P. 1265–1269.

3. Overk C.R., Masliah E. Pathogenesis of synaptic degeneration in Alzheimer's Disease and Lewy Body Disease. Biochemical pharmacology. – 2014. – V. 88. – P. 508–516.

4. Ninkina N., Connor-Robson N., Ustyugov A.A., Tarasova T.V., Shelkovnikova T.A., Buchman V.L. A novel resource for studying function and dysfunction of α-synuclein: mouse lines for modulation of endogenous Snca gene expression. Scientific reports. – 2015. – V. 5. – P. 16615.

5. Carnazza K.E., Komer L.E., Xie Y.X., Pineda A., Briano J.A., Gao V., Na Y., Ramlall T., Buchman V.L., Eliezer D., Sharma M., Burré J. Synaptic vesicle binding of α-synuclein is modulated by β- and γ-synucleins. Cell reports. – 2022. – V. 39(2). – P. 110675.

6. Ninkina N., Millership S.J., Peters O.M., Connor-Robson N., Chaprov K., Kopylov A.T., Montoya A., Kramer H., Withers D.J., Buchman V.L. β-synuclein potentiates synaptic vesicle dopamine

uptake and rescues dopaminergic neurons from MPTP-induced death in the absence of other synucleins. The Journal of biological chemistry. – 2021. – V. 297(6). – P. 101375.

7. Goloborshcheva V.V., Kucheryanu V.G., Voronina N.A., Teterina E.V., Ustyugov A.A., Morozov S.G. Synuclein Proteins in MPTP-Induced Death of Substantia Nigra Pars Compacta Dopaminergic Neurons. Biomedicines. – 2022. – V. 10(9). – P. 2278.

8. Connor-Robson N., Peters O.M., Millership S., Ninkina N., Buchman V.L. Combinational losses of synucleins reveal their differential requirements for compensating age-dependent alterations in motor behavior and dopamine metabolism. Neurobiology of aging. – 2016. – V. 46. – P. 107–112.

9. Ninkina N., Tarasova T.V., Chaprov K.D., Roman A.Y., Kukharsky M.S., Kolik L.G., Ovchinnikov R., Ustyugov A.A., Durnev A.D., Buchman V.L. Alterations in the nigrostriatal system following conditional inactivation of α-synuclein in neurons of adult and aging mice. Neurobiology of aging. – 2020. – V. 91. – P. 76–87.

10. Chaprov K.D., Lysikova E.A., Teterina E.V., Buchman V.L. Kinetics of alpha-synuclein depletion in three brain regions following conditional pan-neuronal inactivation of the encoding gene (Snca) by tamoxifen-induced Cre-recombination in adult mice. Transgenic research. – 2021. – V. 30(6). – P. 867–873.

11. Dagher A., Robbins T.W. Personality, addiction, dopamine: Insights from Parkinson's disease. Neuron. – 2009. – V. 61(4). – P. 502–510.

ХИРУРГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Склифософский Николай Васильевич (1836–1904)

«Истина — одна, пути же, ведущие к её открытию, разнообразны и не могут не быть различными»

МОДИФИЦИРОВАННОЕ ПРЕЦИЗИОННОЕ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЕ ЛУЧЕВОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

В.И. Вошедский, Е.А. Дженкова, П.Г. Сакун

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону

Актуальность темы исследования. Метастатическое поражение головного мозга (МПГМ) злокачественными опухолями – наиболее часто встречающееся интракраниальное новообразование. В России не ведется четкой статистики частоты встречаемости МПГМ. Анализируя статистику заболеваемости злокачественными новообразованиями в России и принимая во внимание усредненные данные кооперативных исследований о частоте церебрального метастазирования, можно получить условную цифру 45,8 на 100 тыс. населения [1].

В структуре общей заболеваемости злокачественными новообразованиями в России рак легких входит в тройку ведущих (9,4%), а среди мужского населения занимает первое место в структуре онкологической патологии (16,3%) [2]. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является наиболее частым первичным злокачественным процессом, сопровождающимся развитием метастазов в головной мозг с частотой 17–44% [3].

В настоящее время локальная лучевая терапия является важнейшим компонентом мультидисциплинарного подхода в лечении пациентов с метастатическим поражением головного мозга. В последние десятилетия радиохирургия (СРХ) стала использоваться в первой линии терапии пациентов с МПГМ. Имеющиеся клинические данные подтверждают высокую эффективность такого варианта облучения в достижении высокого локального контроля метастазов в головном мозге [4].

Экспериментальные модели метастазов головного мозга мыши in vivo показали, что неоангиогенез является специфическим признаком метастазов НМРЛ в головной мозг и ключевым для роста макрометастазов. Доказано, что индукция неоангиогенеза необходима уже начиная с этапа от периваскулярной клетки до мирко- и макрометастаза, так как терапия антиангиогенным ингибитором *VEGF* эффективно подавляла этот процесс (по сравнению с плацебо), что приводило к снижению частоты развития макрометастазов в головном мозге [5].

Таким образом, по данным литературы в современной клинической практике лечение больных с МПГМ является чрезвычайно сложной и актуальной задачей. Разнообразие возможных терапевтических методик требует мультидисциплинарного подхода к данной проблеме. Изменение парадигм лучевой терапии и выход на первый план локального облучения

внутримозговых метастазов, требует поиска новых способов повышения эффективности их лечения.

Недавние исследования показали, что микроРНК участвуют в реализации механизмов опухолевой радиорезистентности. Аберрантная экспрессия микроРНК была идентифицирована при многих злокачественных новообразованиях, в том числе НМРЛ [6]. Исследования in vitro продемонстрировали, что чувствительность или устойчивость к ионизирующему излучению может изменяться в зависимости от увеличения или снижения экспрессии конкретных микроРНК. Идентификация молекулярных механизмов, лежащих в основе развития радиорезистентности при участии микроРНК, может значительно расширить арсенал терапевтических подходов, что позволит повысить радиочувствительность или ограничить радиорезистентность опухоли, тем самым оказывая более значимые клинические эффекты в ответ на лучевую терапию пациентов с МПГМ НМРЛ.

Цель исследования

Экспериментальная и клиническая оценки эффективности модифицированного прецизионного стереотаксического лучевого лечения больных с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Поставленная цель достигалась решением следующих **задач:**

1. Экспериментально изучить влияние радиохирургических доз лучевой терапии (18–24 Гр) на клеточные линии рака легкого (NCI – H1299) in vitro и in vivo с оценкой уровня экспрессии микроРНК и изменения копийности генов-компонентов сигнальных каскадов, вовлеченных в репарацию ДНК, регуляцию клеточного цикла и апоптоза с определением «маркерных» молекулярных показателей реакции на воздействие.

2. Провести сравнительный анализ эффективности проведенного лечения (облучении всего головного мозга, прецизионного стереотаксического облучения в самостоятельном варианте и в комбинации с бевацизумабом) у пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

3. Изучить уровень экспрессии микроРНК, отобранных в ходе экспериментального этапа, в плазме крови пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого при облучении всего головного мозга, прецизионного стереотаксического облучения в самостоятельном варианте и в комбинации с бевацизумабом.

4. Провести анализ зависимости от изменения уровня экспрессии «маркерных» микро-РНК и эффективности терапии при облучении всего головного мозга, прецизионного стереотаксического облучения в самостоятельном варианте и в комбинации с бевацизумабом при

метастатическом поражении головного мозга немелкоклеточным раком легкого с определением их прогностической значимости.

Материалы и методы

Экспериментальный этап. В исследовании проведена двухэтапная экспериментальная работа in vitro и in vivo для изучения влияния радиохирургических доз лучевой терапии (18–24 Гр) на клеточные линии рака легкого (NCI – H1299).

В опыте in vitro производилось культивирование клеточной линии H1299 с последующим облучением на линейном ускорителе NovalisTx (Varian, США) в режиме высокой мощности (1000 mu/min) дозами от 18 до 24 Гр с шагом 1 Гр. Экспозиция 24 часа, с последующим определением жизнеспособности клеток, оценкой апоптотической активности, определением уровня экспрессии микро-РНК и изменения копийности генов. В опыте in vivo облучению повергались 20 мышей линии BALB/c Nude в возрасте 4–6 недель и массой тела 18–25 г. с подкожно имплантированной опухолью из культуры немелкоклеточного рака легкого H1299. Локальное облучение мышей проводилось на линейном ускорителе (6 MV; 1000 mu/min) с разовыми дозами 18 Гр, 20 Гр, 22 Гр и 24 Гр. На следующие сутки после облучения проводилась эвтаназия животных методом декапитации и забор биологического материала с последующей оценкой в нем уровня экспрессии микро-РНК (*hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-17-3p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-145-5p*, *hsa-miR-663*) и изменения копийности генов (*AKT1*, *ATM*, *BIRP1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDKN1B*, *CCND1*, *RBBP8*, *RAD50*, *TP53*, *XRCC4*, *BAX*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP3*, *CASP9*, *C-FLIP*, *MDM2*, *BCL2*).

Жизнеспособность клеток определяли на автоматическом анализаторе EVE (NanoEntec, Корея) окрашиванием трипановым синим 0,4% (NanoEntec, Корея). Оценку апоптотической активности проводили на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (BD, США) с использованием Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (BD Pharminogen, США). Определение относительной копийности генетических локусов и изменения копийности генов проводили методом Real-Time qPCR (RT-qPCR).

Клинический этап. В клинической части диссертации оценены непосредственные результаты радиохирургического лечения 90 пациентов с немелкоклеточным раком легкого $T_{1-4}N_{0-3}M_{0-1}$ (аденокарцинома) и установленным по данным МРТ головного мозга метастатическим поражением головного мозга, которые прошли радиотерапевтическое лечение в отделении радиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2018–2021 гг.

Пациенты в исследовании разделены на 3 группы по методике проводимой терапии: 1-я группа (контрольная) – облучение всего головного мозга (ОВГМ); 2-я группа (основная) – стереотаксическая радиохирургия (СРХ); 3-я группа (основная) – стереотаксическая

радиохирургия с предварительным введения бевацизумаба (СРХ+Б). Распределение пациентов по группам производилось на основании возможности проведения локальной стереотаксической лучевой терапии, зависящей от размеров патологических образований и их ориентации относительно критических структур.

Все больные сравниваемых групп находились в возрастной группе от 33 до 78 лет, в 1-й группе возраст пациентов, включенных в группу, составил 60,1±8,9 года, во 2-й группе – 58,6±10,1 лет, в 3-й – 60,9±9,05 лет. Первичным заболеванием у всех больных был НМРЛ, морфологически верифицированный как аденокарцинома различной степени дифференцировки.

Отличия между анализируемыми группами касались лишь варианта облучения, выбор которого определялся на основании возможности проведения локальной стереотаксической лучевой терапии, зависящей от размеров и количества патологических образований и их ориентации относительно критических структур. Различия между основными группами больных заключались в использовании в 3-й группе пациентов препарата бевацизумаба с целью оптимизации лечения.

Пациентам всех групп топометрическая подготовка пациентов выполнялась на компьютерном томографе Siemens Somatom Definition AS (Германия). Исследуемым пациентам 1-й группы фиксация осуществлялась с помощью изготовления индивидуальной термопластической маски для головы. Для пациентов 2-й и 3-й групп фиксация производилась индивидуальной трехслойной термопластической маской для стереотаксической лучевой терапии. Реализация плана лучевой терапии происходила на медицинском линейном ускорителе электронов NovalisTx (Varian, США). У пациентов 1-й группы разовая очаговая доза (РОД) составляла 3 Гр, до суммарной очаговой дозы 30 Гр за 10 фракций. У пациентов 2-й и 3-й группы проводилась СРХ с РОД 18–24 Гр за 1 фракцию. Пациентам из 3-й группы проводилась однократная внутривенная инфузия бевацизумаба (Авегра® БИОКАД, Россия, концентрат для приготовления раствора для инфузий 25 мг/мл 16 мл) в дозе 5 мг/кг, разведенной в 400 мл раствора NaCl 0,9%, за сутки до проведения сеанса стереотаксической лучевой терапии. Доза бевацизумаба выбрана как минимально возможная согласно инструкции к препарату. Средняя доза на одного больного составила 390 мг.

Оценка эффективности лечения оценивалась по критериям RANO BM (Response Assessment in Neuro-Oncology Brain Metastases) на основании контрольной магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга в трехмерных режимах через 1 месяц после проведенного лечения.

Оценка молекулярных эффектов проведенного лечения. Пациентам всех групп методом Real-Time qPCR (RT-qPCR) до лечения и через 1 месяц после его завершения в плазме крови производилась оценка уровня экспрессии микроРНК. Для создания модели оценки ответа

на лечение различные соотношения данных микроРНК из исследуемого набора были объединены для расчета формулы с использованием множественной логистической регрессии и разработкой классификаторов, которые могут дифференцировать пациентов относительно будущей реакции на лечение.

Результаты исследования

Оценка жизнеспособности клеток после воздействия ионизирующего излучения in vitro.

Выполнен анализ влияния ионизирующего излучения высокой мощности на развитие апоптоза и выживаемость клеточной линии НМРЛ легкого Н1299. При автоматическом подсчете живых клеток наименьшее количество живых клеток наблюдается при СОД от 22 Гр до 24 Гр ($4,5–4,6\times10^6$), также отмечается значительное уменьшение количества живых клеток в облученных группах (от 1,67 до 2,72 раз) по сравнению с контрольной группой ($12,25*10^6$).

При определении типа клеточной гибели оказалось, что процент клеток, окрашенных только аннексином V (соответствует апоптотическим клеткам), наибольший в группе с очаговой дозой 24 Гр (5,7%), что на 2,7% выше, чем в контрольной группе. Анализ количества клеток, окрашенных и аннексином V, и иодидом пропидия (соответствует постапоптотическому некрозу) показал, что наибольший эффект наблюдался в диапазоне доз ионизирующего излучения от 20 Гр до 24 Гр.

Таким образом, установлено, что динамика и уровень реакций, возникших в облучённой клеточной культуре, имеют прямо пропорциональную зависимость от дозы лучевой терапии. Наибольший эффект на клеточные культуры оказали дозы лучевой терапии выше 20 Гр, причем результаты в дозах от 21 Гр до 24 Гр имеют наименьший разброс, что может свидетельствовать о их сопоставимой эффективности.

Оценка изменения копийности генов-компонентов сигнальных каскадов и микроРНК при воздействии высоких доз ионизирующего излучения in vitro.

При сравнении относительной копийности в генетических локусах культуры клеток НМРЛ Н1299 обнаружено статически достоверное изменение относительной копийности генов *CASP3* и *RBBP8* (рисунок 1).

При сравнении экспрессии различных микроРНК в культуре клеток НМРЛ Н1299 обнаружено статически достоверное изменение экспрессии *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663* (рисунок 2).

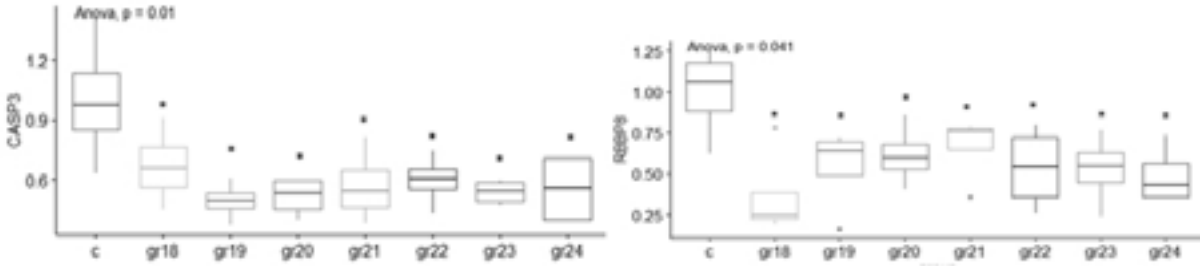


Рисунок 1. Изменения копийности гена *CASP3* и *RBBP8* через 24 часа после воздействия на культуру клеток немелкоклеточного рака легкого H1299. С – контроль; gr18 – воздействие в дозе 18 Гр; gr19 – воздействие в дозе 19 Гр; gr20 – воздействие в дозе 20 Гр; gr21– воздействие в дозе 21 Гр; gr22 – воздействие в дозе 22 Гр; gr23 – воздействие в дозе 23 Гр; gr24 – воздействие в дозе 24 Гр; Ось Y – уровень копийности (ΔCt).

Примечание. * – различия в группах статистически достоверны по сравнению с контролем

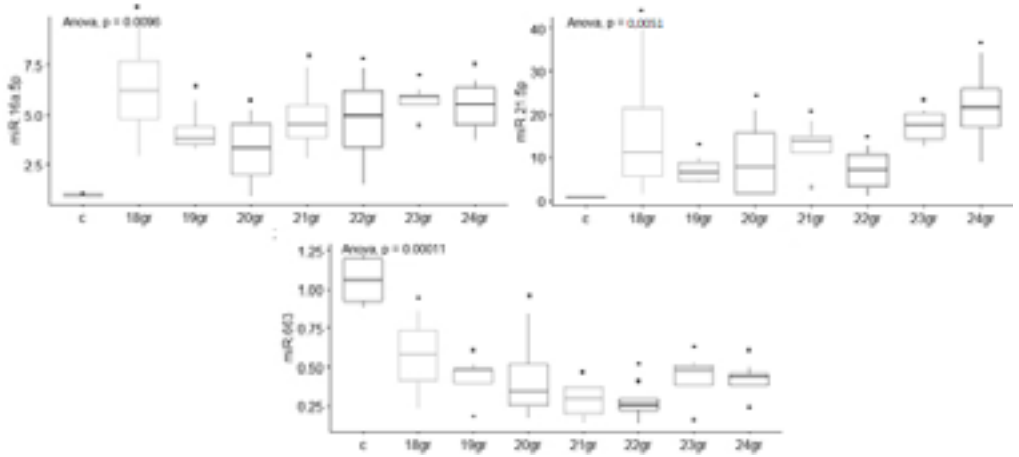


Рисунок 2. Изменения экспрессии miR-16a-5p, hsa-miR-21-5p и hsa-miR-663 через 24 часа после воздействия ионизирующего излучения на культуру клеток немелкоклеточного рака легкого H1299. С – контроль; 18gr – воздействие в дозе 18 Гр; 19gr – воздействие в дозе 19 Гр; 20gr – воздействие в дозе 20 Гр; 21gr– воздействие в дозе 21 Гр; 22gr – воздействие в дозе 22 Гр; 23gr – воздействие в дозе 23 Гр; 24gr – воздействие в дозе 24 Гр; Ось Y – уровень экспрессии (ΔCt).

Примечание. * – различия в группах статистически достоверны по сравнению с контролем

Установлены следующие изменения экспрессии *miR-16a-5p*: повышение экспрессии по сравнению с контрольной группой в 4,9 раза (p=0,0096). Значимых отличий в экспрессии микроРНК между экспериментальными группами, подвергнутых воздействию радиохирургических доз ионизирующей радиации, выявлено не было. Установлено повышение экспрессии *miR-21-5p* по сравнению с контрольной группой в среднем в 13 раз (p=0,005). Оценка экспрессии *miR-663* показала снижение по сравнению с контрольной группой в среднем в 2,8 раз (p=0,00011). Однако значимых отличий в экспрессии микроРНК между экспериментальными группами, подвергавшимися воздействию радиохирургических доз ионизирующего излучения, выявлено не было.

Оценка изменения копийности генов-компонентов сигнальных каскадов, вовлеченных в репарацию ДНК, регуляцию клеточного цикла и апоптоза и экспрессии микроРНК при воздействии высоких доз ионизирующего излучения in vivo.

При анализе определялась копийность генов-компонентов сигнальных каскадов, вовлеченных в репарацию ДНК, регуляцию клеточного цикла и апоптоза в ходе статистического анализа не было установлено достоверных различий, при которых уровень значимости P составил менее 0,05.

При сравнении экспрессии микроРНК обнаружено статически достоверное изменение экспрессии *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663*. При анализе изменения экспрессии *miR-21-5p* отмечено повышение ее уровня по сравнению с контрольной группой в среднем в 2,7 раза (p=0,0418). Наибольший уровень экспрессии, превышающий контроль в 3,8 раз, наблюдается при действии разовой очаговой дозы величиной 24 Гр. При анализе изменения экспрессии *miR-663* было отмечено достоверное снижение показателя по сравнению с контрольной группой в среднем в 1,6 раз (p=0,0097). Наибольший уровень снижения экспрессии (в 3,2 раза) наблюдается при действии разовой очаговой дозы в 24 Гр (рисунок 3).

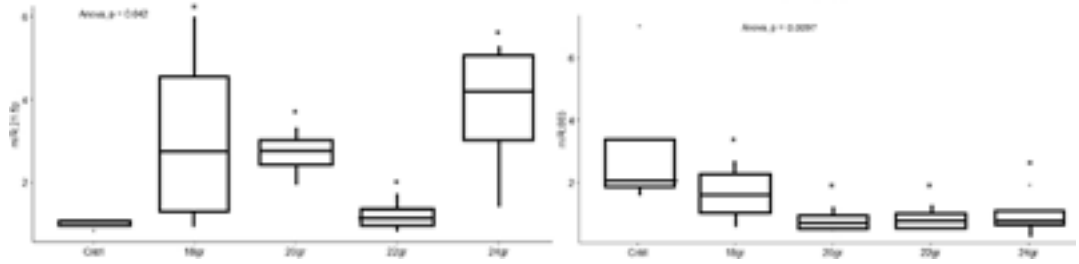


Рисунок 3. Изменения экспрессии miR-21-5p и miR-663 через 24 часа после воздействия ионизирующего излучения на самок мышей линии BALB/c Nude с подкожно имплантированной опухолью. Cntrl – контроль; 18gr – воздействие в дозе 18 Гр; 20 gr – воздействие в дозе 20 Гр; 22gr – воздействие в дозе 22 Гр; 24gr – воздействие в дозе 24 Гр; Ось Y – уровень экспрессии (ΔCt).

Примечание. * – различия в группах статистически достоверны по сравнению с контролем

Выявленные изменения сопоставляются с результатами, полученными при облучении культуры клеток НМРЛ H1299, в которых наблюдаются сходные изменения экспрессии. Полученные данные могут свидетельствовать о значимом влиянии miR-21-5p на процессы регулируемой клеточной гибели при воздействии высокодозным ионизирующим излучением. При учете влияния miR-663 на регуляцию апоптоза, учитывая ее негативный эффект по отношению к индукторам нарушения проницаемости внешней митохондриальной мембраны PUMA/BBC3 и BTG2 [7], можно предположить, что miR-663 активно участвует в ответе на радиационное воздействие

Исследование уровня экспрессии микроРНК у больных с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Учитывая полученные нами экспериментальные данные in vitro и in vivo, было решено оценить влияние терапии на паттерны экспрессии микроРНК в плазме крови пациентов всех трех групп с определением возможных закономерностей. Относительная экспрессия во всех трех группах после проведенной лучевой терапии достоверно изменялась у четырех микроРНК: *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663*. Было проанализировано, связаны ли уровни экспрессии микроРНК в плазме крови с ответом на лучевую терапию. Для выявления микроРНК-кандидатов для прогностического классификатора были проведены сравнения уровней экспрессии исследуемых микроРНК в плазме крови пациентов до лечения внутри групп пациентов с положительным ответом (частичный ответ и стабилизация) на лечение и прогрессированием итракраниального процесса согласно критериям RANO, так как данные варианты ответа в подавляющим большинстве встречаются в исследовании.

Для пациентов группы с ОВГМ такими микроРНК стали *hsa-miR-15*, *hsa-miR-21* и *hsa-miR-663*. Значения ΔCt данных микроРНК используются для расчета диагностической формулы «Диагностическая оценка = -1,279* ΔCtmiR-15 - 0.418* ΔCt miR-21 + 0,134* ΔCt miR-663». Пороговое значение диагностической оценки для данной группы равно -18,285. Для образцов пациентов первой группы, исследованных до терапевтического воздействия, точность (AUC классификатор) составила 87,5% с показателями чувствительности и специфичности 100% и 64,6% соответственно.

Для пациентов второй группы, подвергшихся СРХ в самостоятельном варианте, такими микроРНК стали *hsa-miR-15* и *hsa-miR-21*. Значения ΔCt данных микроРНК использовались для расчета диагностической формулы «Диагностическая оценка = 0,333*ΔCt miR-15 +0.996*ΔCt miR-21». Пороговое значение диагностической оценки для данной группы равно 13,197. Для образцов пациентов данной группы, исследованных до терапевтического воздействия, точность (AUC классификатор) составила 81,2% с показателями чувствительности и специфичности 100% и 42,5% соответственно.

Для пациентов третьей группы (СРХ с предварительным введением бевацизумаба в дозировке 5 мг/кг) прогностический значимой микроРНК явилась *hsa-mir-21*. Значения ΔCt данной микроРНК использовались для расчета диагностической формулы «Диагностическая оценка = 0,926* ΔCt miR-21». Пороговое значение диагностической оценки для данной группы равно 4,959. Для образцов пациентов третьей группы, исследованных до терапевтического воздействия, точность (AUC классификатор) составил 83,3% с показателями чувствительности и специфичности 100% и 50,7% соответственно.

Таким образом, в нашем исследовании выявлены характерные изменения экспрессии микроРНК *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663*, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров прогноза ответа на различные варианты лучевой терапии.

Клинические результаты лучевой терапии у больных с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Противоопухолевая эффективность проведенной терапии у всех пациентов оценивались на основании данных контрольной магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга в трехмерных режимах с контрастным усилением до лечения и через 1 месяц после проведенного лечения. Оценка эффективности лечения проводилась по критериям RANO BM (Response Assessment in Neuro-Oncology Brain Metastases) (рисунок 4).

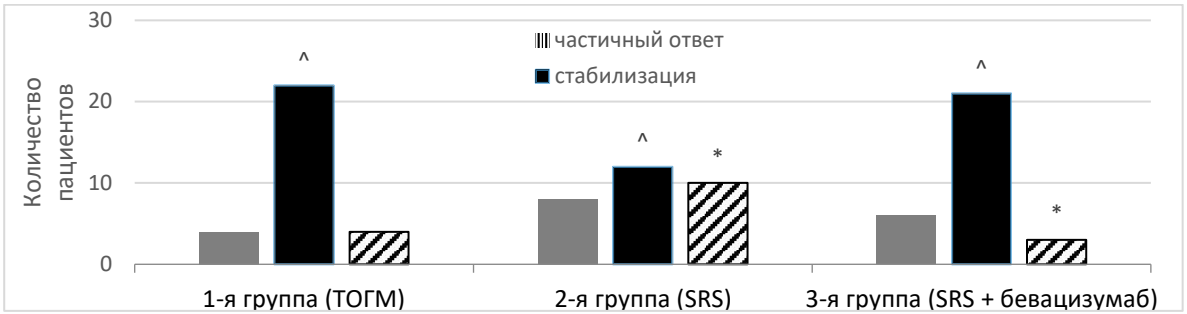


Рисунок 4. Распределение пациентов в группах по степени ответа на терапию

Примечание. * – достоверно при p<0,05 между сравниваемыми группами. ^ – достоверно при p<0,05 при сравнении со 2-й группой

Нужно отметить, что во 2-й группе больных было существенно меньшее число случаев стабилизации процесса по сравнению с другими вариантами облучения – 40% против 73 и 70% случаев, соответственно в контроле и в 3 группе (p<0,05), и в 3,2 раза чаще с тенденцией к достоверности имело место прогрессирование процесса по сравнению с контролем – 10 (33,3%) против 4 (10,3%) (p<0,1), при этом увеличение «кумулятивного» объема метастатических очагов составило 34,83%.

Вместе с тем сравнение частоты случаев со стабилизацией процесса между основными группами наблюдения свидетельствовали о перспективности использования бевацизумаба при проведении СТХ МПГМ. При практически равном уровне частичного эффекта во 2-й и 3-й группе (26,7% и 20% соответственно) предварительное внутривенное введение бевацизумаба явно способствовало усилению противоопухолевого эффекта СТХ по сравнению с самостоятельным ее проведением. Так, число случае со стабилизацией процесса было в 1,75 раз больше (70% против 40% – p<0,05), а число случаев его прогрессирования в 3 раза реже (10% против 33,3% – p<0,05) именно в 3-й группе СТХ+Б.

Выявлено, что предварительное введение бевацизумаба в дозе 5 мг/кг приводит к достоверному снижению частоты интракраниального прогрессирования по сравнению с стереотаксической радиохирургией в самостоятельном варианте (10% в 3 группе против 33% во 2 группе – p<0,05), которое может быть связано с противоопухолевым действием бевацизумаба

на микрометастатические очаги в головном мозге, не выявленные на исходном МРТ головного мозга.

При анализе кумулятивного объема при интракраниальном прогрессировании после комбинированного применения бевацизумаба в дозе 5 мг/кг и стереотаксической радиохирургии, установлена тенденция к снижению кумулятивного объема очагов поражения при прогрессировании интракраниального процесса после комбинированного воздействия по сравнению со стереотаксической радиохирургией в самостоятельном варианте, что так же может быть связано с противоопухолевым действием бевацизумаба.

Выводы

1. В эксперименте in vitro на клеточной линии немелкоклеточного рака легкого H1299 установлены значимые изменения копийности генов *CASP3* (p=0,01) и *RBBP8* (p=0,041) и экспрессии микроРНК *hsa-miR-16a-5p* (p=0,0096), *hsa-miR-21-5p* (p=0,005), *hsa-miR-663* (p=0,00011) при воздействии ионизирующего излучения в радиохирургических режимах (18–24 Гр; 1000MU/min).

2. В эксперименте in vivo на мышах линии BALB/c Nude с подкожно имплантированной опухолью из клеточной линии немелкоклеточного рака легкого H1299 установлены значимые изменения экспрессии микроРНК *hsa-miR-21-5p* (p=0,0418) и *hsa-miR-663* (p=0,0097), возникшие в ответ на воздействие ионизирующего излучения высокой мощности.

3. Комбинация стереотаксической радиохирургии с предварительным введением бевацизумаба в дозировке 5 мг/кг, приводит к достоверному снижению в 3,3 раза ($p<0,05$) уровня интракраниального прогрессирования в виде появления новых метастатических очагов по сравнению с стереотаксической радиохирургией в самостоятельном варианте при лечении пациентов с множественным и/или нерезектабельным одиночным метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

4. Выявлена значимость *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p, hsa-miR-663* для прогнозирования ответа на облучение всего головного мозга, радиохирургическое лечение в самостоятельном варианте и в комбинации с бевацизумабом пациентов с множественным и/или нерезектабельным одиночным метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алешин, В.А., Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных с метастатическими опухолями головного мозга / В.А. Алешин А.Х. Бекяшев, Д.М. Белов, В.А. Горбунова, В.Б. Карахан, С.В. Медведев, А.А. Митрофанов, З.П. Михина, Е.А. Москвина, Д.Р. Насхлеташвили – Текст: электронный // Ассоциация онкологов России – 2014. URL: https://www.volgmed.ru/uploads/files/2014-11/34180-klinicheskie _rekomendacii_po_diagnostike_i_lecheniyu_bolnyh_s_metastaticheskimi_opuholyami_golovnogo_mozga_2014_http_oncology-association_ru.pdf.

2. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. − М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России − 2020. − илл. − 252 с.

3. Yousefi, M. Lung cancer-associated brain metastasis: Molecular mechanisms and therapeutic options / M. Yousefi, T. Bahrami, A. Salmaninejad, R. Nosrati, P. Ghaffari, S.H. Ghaffari // Cell Oncol (Dordr) – 2017. – Vol. 40. – №5. – P. 419–441.

4. Банов, С.М. Современные стратегии лечения пациентов с метастазами в головной мозг / С.М. Банов, А.В. Голанов, С.Р. Ильялов, Е.Р. Ветлова, Н.А. Антипина, А.Х. Бекяшев, А.А. Потапов // Вопросы онкологии. – 2017. – Т. 63. – № 4. – С. 523–535.

5. Masuda, C. Bevacizumab suppresses the growth of established non-small-cell lung cancer brain metastases in a hematogenous brain metastasis model / C. Masuda, M .Sugimoto, D. Wakita, M. Monnai, C. Ishimaru, R. Nakamura, M. Kinoshita, K. Yorozu, M. Kurasawa, O. Kondoh, K. Yamamoto // Clin Exp Metastasis. – 2020. – Vol. 37 (1). – P. 199–207.

6. Florczuk, M. miRNAs as biomarkers and therapeutic targets in non-small cell lung cancer: current perspectives / M. Florczuk, A. Szpechcinski, J. Chorostowska-Wynimko // Targeted oncology. – 2017. – Vol. 12. – №. 2. – P. 179-200.

7. Fiori, M.E. MiR-663 sustains NSCLC by inhibiting mitochondrial outer membrane permeabilization (MOMP) through PUMA/BBC3 and BTG2 / M.E. Fiori, L. Villanova, C. Barbini, M.L. De Angelis, R. De Maria //Cell death & disease. – 2018. – Vol. 9. – №. 2. – P. 1-13.

ВЫБОР ТЕРАПИИ ПЕРВОЙ ЛИНИИ ПЕРВИЧНОЙ МЕДИАСТИНАЛЬНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

А.Б. Галицына[1,2], А.Ю. Терехова[2], Н.А. Фалалеева[2]

[1]Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д. 1

[2]Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации; 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4

Аннотация

Актуальность. Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) составляет 2-4% в структуре неходжкинских лимфом и является агрессивным заболеванием. До 2016 года ПМВКЛ входила в структуру диффузной В-крупноклеточной лимфомы, однако после изучения молекулярно-генетических характеристик была выделена в отдельное заболевание. В связи с этим однозначного решения о терапии ПМВКЛ до сих пор нет – российские и зарубежные клинические рекомендации предлагают различные варианты лекарственной терапии в сочетании с дистанционной лучевой терапией и без нее.

Цель исследования. Изучить результаты терапии пациентов с ПМВКЛ, проходивших лечение в МРНЦ им. А.Ф.Цыба с 2016 по 2023 год по всем применявшимся в центре схемам терапии.

Материалы и методы. В исследование вошли 60 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом ПМВКЛ. Среди пациентов преобладали женщины (23\29). В соответствии со шкалой AnnArbor, II стадия была установлена у 48 (73,2%), III - у 4 (6,2%), IV стадию определили у 13 (20%) больных. У большинства (89,2%) пациентов было установлено вовлечение экстранодальных органов по протяжению (E). Медиана возраста составила 34 года (17-62), медиана наблюдения - 51,2 месяца (0,4-200,9). Пациенты были разделены на 3 группы на основании использовавшейся схемы терапии - R-NHL-BFM-90 (9 пациентов), R-CHOP (17 пациентов), R-MACOP-B (32 пациента). Еще 2 пациента проходили терапию по схеме R-EPOCH из-за тяжести состояния. Подавляющему большинству пациентов (90%) была проведена дистанционная лучевая терапия в СОД 30-46 Гр на область средостения в зависимости от ответа на лекарственную терапию. Все пациенты были сопоставимы по основным характеристикам до начала лечения, выбор схемы терапии был обусловлен лишь историческим этапом.

Результаты. Общая выживаемость составила 66,7%, 88,2% и 100% для групп R-NHL-BFM-90, R-CHOP и R-MACOP-B соответственно (p=0,007). Выживаемость без прогрессирования составила 66,7%, 70,6% и 96,9% (p=0,017), выживаемость без рецидива – 100%, 94,1% и 96,9% соответственно (p=0,757). В процессе лечения лейкопения 4 степени развилась у 78%, 41% и 38% пациентов, анемия 3 степени – у 22%, 0% и 16% пациентов соответственно. Печеночная токсичность 3 степени была зарегистрирована у 78%, 6% и 34% пациентов соответственно, один эпизод

токсичности 4 степени был зарегистрирован в группе R-MACOP-B. Септициемия была отмечена у 22%, 0% и 6% пациентов соответственно. Среди 60 пациентов промежуточный результат терапии оценивался по ПЭТ-КТ у 37 (61,6%). Метаболическая активность (5 баллов) была отмечена у 6 пациентов (16,2%), 3 из которых была проведена уточняющая биопсия ПЭТ-активного образования – лишь в 1 случае опухоль была верифицирована. Частичный ответ (4 балла) был получен у 4 пациентов (10,8%), полный ответ (3-1 балла) – у 27 (73%). В одном случае после получения полного ответа у пациентки был зарегистрирован ранний рецидив после окончания лечения.

Выводы. Наибольшую результативность в сочетании с приемлемой токсичностью продемонстрировала схема R-MACOP-B. Комбинация с дистанционной лучевой терапией позволила добиться снижении токсичности и интенсивности схемы химиотерапии, что поспособствовало снижению показателей токсичности по результатам проведенного лечения. Оценка ответа на терапию с помощью ПЭТ-КТ является достойным прогностическим методом для определения дальнейшей тактики лечения, однако немаловажно уточнение положительных результатов с помощью морфологической верификации при ее доступности.

Ключевые слова: первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, неходжкинские лимфомы, ПЭТ-КТ, терапия первой линии

FIRST-LINE TREATMENT FOR PRIMARY MEDIASTINAL B-CELL LYMPHOMA

A.B. Galitsyna[1,2], A.U. Terekhova[2], N.A. Falaleeva[2]

[1]Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering - branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Nuclear University "MEPhI", Obninsk, Russian Federation, 249039, Kaluga region, Obninsk city district, Obninsk city, ter. Campus, 1

[2]A.Tsyb Medical Radiological Research Center - branch of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Radiological Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Abstract

Relevance. Primary mediastinal B-large cell lymphoma (PMBCL) accounts for 2-4% in the structure of non-Hodgkin's lymphomas and considered as an aggressive disease. Until 2016, PMBCL was a part of the structure of diffuse large B-cell lymphoma, but after studying the molecular genetic characteristics, it was isolated into a separate disease. In this regard, there is still no unambiguous decision on the treatment of PMBCL – Russian and foreign clinical guidelines offer various options for drug therapy in combination with and without remote radiotherapy.

The purpose of the study. To study the results of therapy of patients with PMBCL who were treated at the NMRC A.P.Tsyba from 2016 to 2023 according to all therapy regimens used at the center.

Materials and methods. The study included 60 patients with a morphologically verified diagnosis of PMBCL. Women predominated among the patients (23\29). According to the AnnArbor scale, stage II was established in 48 (73.2%), stage III - in 4 (6.2%), stage IV was determined in 13 (20%) patients. The majority (89.2%) of patients had involvement of extranodal organs along the length (E). The median age was 34 years (17-62), the median follow-up was 51.2

months (0.4-200.9). The patients were divided into 3 groups based on the therapy regimen used - R-NHL-BFM-90 (9 patients), R-CHOP (17 patients), R-MACOP-B (32 patients). 2 more patients were treated according to the R-EPOCH scheme due to the severity of the condition. The majority of patients (90%) underwent remote radiation therapy in the range of 30-46 Gy per mediastinal area, depending on the response to drug therapy. All patients were comparable in basic characteristics before the start of treatment, the choice of therapy regimen was determined only by the historical period.

Results. The overall survival rate was 66.7%, 88.2% and 100% for the R-NHL-BFM-90, R-CHOP and R-MACOP-B groups, respectively (p=0.007). Progression–free survival was 66.7%, 70.6% and 96.9% (p=0.017), relapse-free survival was 100%, 94.1% and 96.9%, respectively (p=0.757). During treatment, grade 4 leukopenia developed in 78%, 41% and 38% of patients, grade 3 anemia – in 22%, 0% and 16% of patients, respectively. Grade 3 hepatic toxicity was recorded in 78%, 6% and 34% of patients, respectively, one episode of grade 4 toxicity was recorded in the R-MACOP-B group. Septicemia was observed in 22%, 0% and 6% of patients, respectively. Among 60 patients, the intermediate outcome of therapy was assessed by PET-CT in 37 (61.6%). Metabolic activity (5 points) was noted in 6 patients (16.2%), 3 of whom underwent a clarifying biopsy of the PET-active formation – only in 1 case the tumor was verified. A partial response (4 points) was obtained in 4 patients (10.8%), a complete response (3-1 points) – in 27 (73%). In one case, after receiving a complete response, the patient had an early relapse after the end of treatment.

Conclusions. The R-MACOP-B scheme demonstrated the greatest effectiveness in combination with acceptable toxicity. The combination with remote radiation therapy made it possible to reduce the toxicity and intensity of the chemotherapy regimen, which contributed to a decrease in toxicity indicators based on the results of the treatment. Evaluation of the response to therapy using PET-CT is a worthy prognostic method for determining further treatment tactics, however, it is important to clarify positive results using morphological verification when it is available.

Keywords: lymphoma, Non-Hodghkin, B-cell, PET-CT

Введение

Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМЛ) является экстранодальной В-клеточной лимфомой, происходящей из В-лимфоцитов тимуса. ПМЛ описана впервые в 1980-х, причем изначально была классифицирована как вариант Диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДБКЛ) [1]. Позднее, в 2001 году, в связи с особенными клиническими, гистологическими и молекулярными характеристиками, ПМЛ была выделена ВОЗ как отдельная нозологическая единица [2].

Частота ПМЛ среди неходжкинских лимфом составляет 2-3%, всех В-клеточных лимфом - 6-12% [3]. Ежегодно регистрируется 0,4 случая ПМЛ на миллион населения. Подавляющее большинство пациентов – взрослые в возрасте 30-39 лет [3,4]. Во всех случаях обнаруживается вовлечение средостения с первичным очагом в тимусе, часто поражаются легкие, плевра и перикард. Дифференцировать ПМЛ необходимо, прежде всего, с ДБККЛ, лимфомой Ходжкина (классический вариант), медиастинальной лимфомой серой зоны.

Терапия первой линии больных ПМЛ является более спорным вопросом, нежели для других типов В-клеточных лимфом [5]. Это связано с тем, что из-за малочисленности пациентов и отсутствия результатов проспективных исследований единого стандарта лечения в настоящее время не существует. Основные имеющиеся разногласия связаны с поиском баланса между максимальным излечением и минимальной долгосрочной токсичностью у этой молодой популяции пациентов. Успешное первичное лечение больных имеет первостепенное значение, так как показатели излечения рецидива заболевания крайне малы. Кроме того, 10-30% больных ПМЛ являются первично химиорезистентными, что делает необходимым поиск схем 2-й и последующих линий терапии. Рецидив развивается, как правило, в течение первых 12 месяцев, часто с поражением отдаленных органов, в том числе центральной нервной системы. 5-летняя ВБП больных химиорезистентной ПМЛ не превышает 27% [6].

Целью нашей работы было оценить эффективность терапии ПМЛ в условиях МРНЦ им. А.Ф. Цыба в течение периода с 2006 по 2023 гг.

Материал и методы

В настоящий анализ включено 65 пациентов с впервые установленным диагнозом ПМЛ, которым проводилось лечение в отделении лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ им. А.Ф.Цыба. Обследование проводилось в объеме, предусмотренном для пациентов с лимфопролиферативным заболеванием. Морфологические варианты и иммунофенотип опухолевых клеток были определены в соответствии с критериями пересмотра классификации ВОЗ от 2008 г. на основании

морфологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследований образцов опухолевой ткани [7].

ИГХ-исследование проводилось с использованием антител к CD20, CD23, CD10, CD30, BCL2, BCL6, MUM1, PAX5, Ki-67. Субстратом исследования явился материал, полученный с помощью эксцизионной биопсии опухоли, а также игольной биопсии (4 чел.) в связи с отсутствием технической возможности проведения эксцизионной биопсии.

Стадирование лимфомы осуществлялось на основе критериев классификации Ann-Arbor в модификации Cotswold. Распределение пациентов по группам риска устанавливали в соответствии с международным прогностическим индексом [8]. На этапах стадирования и для оценки эффективности лечения выполнялась КТ или ПЭТ-КТ в зависимости от доступности ПЭТ-КТ в процессе лечения пациента и с учетом тяжести его состояния. Оценка ответа на терапию в группе пациентов, у которых ПЭТ-КТ выполнена не была, проводили в соответствии с рекомендациями рабочего совещания в Cotswold 1989 г. [9]. Оценка ответа на терапию в группе пациентов, которым проводилась ПЭТ-КТ, осуществлялась с учетом величины метаболического ответа и степени регрессии образований в соответствии с критериями Lugano-2014 по шкале Deauville (DS) [10]. Лечение проводилось по схемам R-CHOP, R-NHL-BFM-90 и R-MACOP-B.

В период с 11.2016 по 01.2018 для лечения ПМЛ применялись схемы R-CHOP и R-NHL-BFM-90 с последующей лучевой терапией. Лечение по схемам R-NHL-BFM-90 получили 9 пациентов, R-CHOP – 17 чел.

В период с 01.2018 по 04.2023 лечение осуществлялось по программе, сочетающей терапию по схеме R-MACOP-B и консолидирующую лучевую терапию. Лечение по этой программе проведено 32 больным.

У 2 пациентов лечение проводилось по схеме R-EPOCH из-за тяжести состояния.

С 2023 г. в отделении проводится лечение по протоколу «ПМЛ-23» с использованием препарата «пембролизумаб» в фиксированной дозе 100 мг в сочетании со схемой R-MACOP и консолидирующей лучевой терапией. Из 5 пациентов, набранных для лечения по протоколу «ПМЛ-23», лекарственный этап протокола завершен у 2-х пациентов, выполнение его продолжается у 3-х больных.

Лучевая терапия, начинавшаяся через 1-1,5 мес. после завершения лекарственного этапа, проводилась либо для консолидации ремиссии, либо с лечебной целью при наличии ПЭТ-положительных очагов. Облучению подвергались зоны исходной опухоли в переднем верхнем средостении и/или остаточных опухолевых масс размером более 2,5 см.

При достижении полного ответа по данным КТ или ПЭТ-КТ суммарная очаговая доза облучения составляла 30–36 Гр, при обнаружении ПЭТ-позитивного резидуального

образования (Ds 4-5) – 46 Гр. Лучевая терапия проводилась на линейном ускорители с энергией фотонного пучка 6 МэВ. Расчет доз осуществляется с помощью комплекса прикладных компьютерных программ и системы 3D-планирования.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен с использованием методов описательной статистики и оценки выживаемости по методу Каплана–Майера, данные анализировались с использованием статистического пакета «SPPSS 17 for Windows». Для построения кривых общей выживаемости (ОВ) продолжительность жизни рассчитывалась от времени установления диагноза до смерти по любой причине. Относительно бессобытийной выживаемости (БСВ) событием являлось развитие рецидива, прогрессии опухоли или смены режима лекарственной терапии. Отсчет время начинался с даты установления диагноза. Для построения кривых выживаемости без прогрессирования (ВБП) учитывался временной интервал между установлением диагноза и прогрессированием заболевания. Расчет выживаемости без рецидива (ВБР) учитывал время от установления диагноза до рецидива заболевания.

Результаты

Характеристика больных

В течение периода с 2006 по 2023 год в отделении лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ имени А.Ф. Цыба лечение получили 65 пациентов с ПМЛ, среди которых преобладали женщины (39/23).

Клинические и лабораторные характеристики больных представлены в Таблице 1. Медиана возраста в группе терапии по схеме R-NHL-BFM-90 составила 30,5 (17-44) лет, R-CHOP - 33 (23-51) года, R-MACOP-B - 35 (19-59) лет.

Таблица 1. Клинические и лабораторные характеристики больных ПМЛ

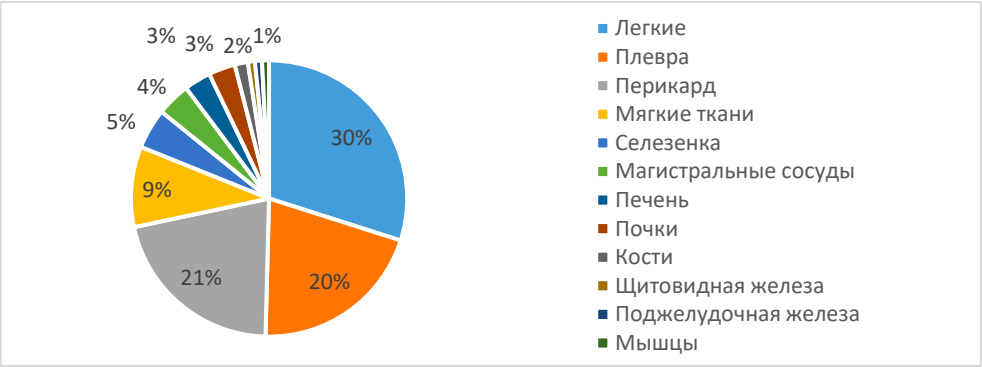
Параметр	Значение	%
Кол-во пациентов	65	100
Медиана возраста	34 (17-62) года	
Медиана наблюдения	51,2 (0,4-200,9) мес.	
Пол (м/ж)	24/41	36,9/63,1
Стадия		
II	48	73,8
III	4	6,2
IV	13	20
B-симптомы		
Имеются	35	53,8
Отсутствуют	30	46,2
Массивное поражение (Bulky)		

Имеется	47	72,3
Отсутствует	18	27,7
Экстранодальные очаги		
Имеются	58	89,2
Отсутствуют	7	10,8
Уровень ЛДГ до начала лечения		
Повышен	62	95,3
Нормальный	3	4,7
Осложнения опухоли до начала лечения		
Синдром верх. пол. вены	23	35,3
Перикардит	22	33,8
Плеврит	20	30,7
Асцит	3	4,6
Инвазия сосудов	5	7,7
Тромбозы	13	20
Международный прогностический индекс		
Низкий-промежуточный	44	67,6
Высокий-промежуточный	19	29,2
Высокий	2	3,2

У большинства пациентов процесс имел местно-распространенный характер, локализовался в пределах передне-верхнего средостения, с вовлечением органов грудной полости. У 47 из 65 (72,3%) пациентов размер образования в средостении превышал 10 см.

В соответствии с классификацией Ann Arbor II стадия установлена у 48 (73,2%), III ст. - у 4 (6,2%), IV ст. - у 13 (20%) больных. У большинства (89,2%) пациентов было установлено вовлечение смежных экстранодальных структур (E) (рис.2).

Рисунок 2. Поражение экстранодальных органов у больных ПМЛ



При проведении ИГХ-исследования CD30 и CD23 экспрессировались в 30 (46,1%) и 53(81,5%) случаев соответственно. Экспрессия CD20 определялась у 65 (100%), MUM1 - у 43 (66,1%), BCL2 - 48 (73,8%), BCL6 – у 49 (75,3%) больных. Индекс пролиферативной активности превышал 80% у 33 (50,7%) чел.

Результаты лечения

К настоящему времени программная терапия полностью завершена у 60 из 65 вошедших в исследование чел., 5 больных находятся в процессе лечение по протоколу ПМЛ-2023, начатого в 2023 г, поэтому выживаемость больных оценена по данным 60 пациентов, завершивших лечение полностью.

Из 9 больных, терапия которых проводилась по схеме NHL-BFM-90, лечение в полном объёме проведено 7 (77,8%) пациентам. У 2 пациентов после 2 блоков терапии было констатировано прогрессирование лимфомы, у 1 - через 2 месяца после полного завершения лечения по протоколу и лучевой консолидации. Эти 3 пациентов, которым проводилась спасательная терапия второй линии, умерли впоследствии от прогрессирования лимфомы. Таким образом, частота объективного ответа на терапию R-NHL-BFM90 составила 77,8% (7 из 9 больных). Консолидирующая лучевая терапия выполнена 7 больным, достигшим объективного ответа на лекарственную терапию. После завершения лечения полный ответ был констатирован у 6 (66,7%) пациентов. ОВ и ВБП составили 66,7%. Рецидивов в процессе наблюдения зарегистрировано не было.

Лечение по схеме R-CHOP было назначено 17 пациентам. Программное лечение, состоявшее из 6-8 циклов терапии по схеме R-CHOP и последующей лучевой терапии, завершили полностью 11 (65%) пациентов. Прогрессирование на разных этапах лекарственного лечения отмечено у 5 пациентов (после завершения 2 циклов - у 2, 4 циклов – у 1, 6 и 8 циклов – по одному больному). Этим пациентам была проведена химиотерапия второй линии по различным программам (DHAP, IGEV, NHL-BFM-90). Частота объективного ответа на терапию R-CHOP, оцененного с помощью СКТ, составила 68% (11 из 17 чел.). Полный и частичный ответы были зарегистрированы у 2 (11,7%) и 9 (52,9%) пациентов соответственно. Консолидирующая лучевая терапия области резидуальных опухолевых очагов (30-36Гр) выполнена 11 пациентам. Рецидив лимфомы был зарегистрирован у одного пациента 33 лет (стадия IIBEX) через 24 мес. после завершения программы по схеме R-CHOP и консолидирующей лучевой терапии. ОВ, ВБП, ВБР составили 88,2%, 66,7%, 94,1% соответственно.

Лечение по программе R-MACOP-B с последующей лучевой терапией завершено у всех 32 пациентов. Полный объем терапии в соответствии с программой (12 недель лекарственного лечения и лучевая терапия) выполнен у 29 (91%) пациентов. У 2 больных лечение было прервано через 2 недели от начала терапии в связи с развитием коронавирусной инфекции. У 1 из них вследствие прерывания лечения было отмечено прогрессирование опухоли. Курс терапии по схеме R-MACOP-B оказался неэффективным лишь у 1 больного (стадия IIBXE). Полый ответ на терапию по схеме R-MACOP-B

зарегистрирован у 26 пациентов, частичный (4 балла) – у 4 пациентов, отсутствие ответа (Ds5) – у 2 пациентов. Очаги с активность Ds5 верифицированы с помощью игольной биопсии. У одного из этих больных отсутствие ответа на терапию подтверждено, у другого признаков опухоли обнаружено не было, что позволило трактовать ответ как частичный. Таким образом, частота объективного ответа на терапию по схеме R-MACOP-B составила 96,6% (29 из 30 больных). По завершении полной программы лечения у всех была достигнута ПЭТ-КТ-негативная ремиссия. Рецидив был зафиксирован у одной пациентки (возраст 48 лет, стадия IIX) через 3 месяца после завершения всей программы лечения по схеме R-MACOP-B и лучевой консолидирующей терапии. В настоящее время все пациенты живы, сохраняется ремиссия ПМЛ. ВБР составила 96,9%.

Таким образом, из 60 больных, включенных в анализ, в результате реализации лекарственного этапа объективный ответ (полная/частичная ремиссия) получен у 56 (93.4%) человек, у 4 (6,6%) человек ответ на первичную терапию отсутствовал. Абсолютная химиорезистентность констатирована у 5 пациентов, все они умерли от прогрессирования лимфомы. Рецидивы заболевания развились у 2 пациентов: у 1 после схемы R-CHOP и у 1 после схемы R-MACOP-B. Под наблюдением остаются 55 пациентов. У всех сохраняется ремиссия заболевания. Пятеро больных умерло от прогрессии заболевания. ВБР составила 96,7%, ОВ - 91,7% (рисунки 3-4)

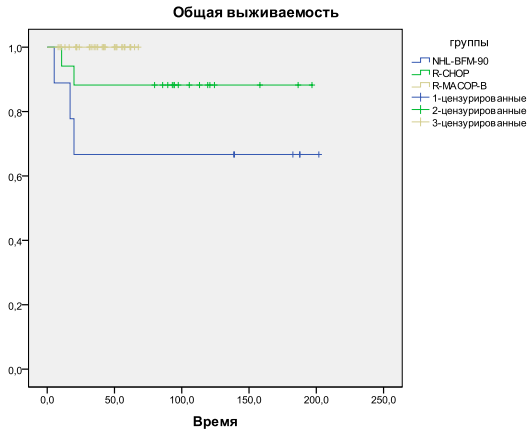


Рисунок 3. ОВ по группам в зависимости от схемы лекарственной терапии, p=0,007

Рисунок 4. ВБП по группам в зависимости от схемы лекарственной терапии (p=0,006)

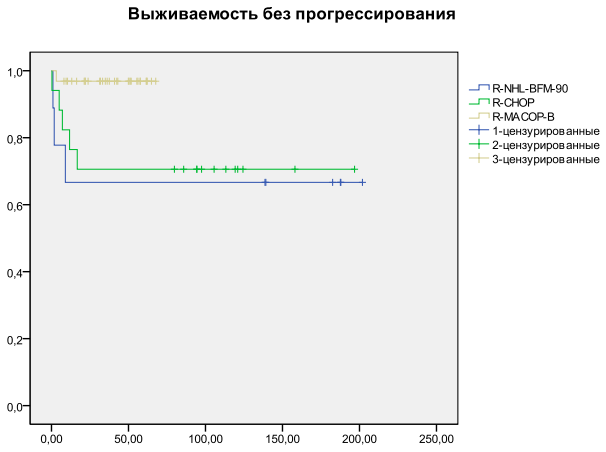
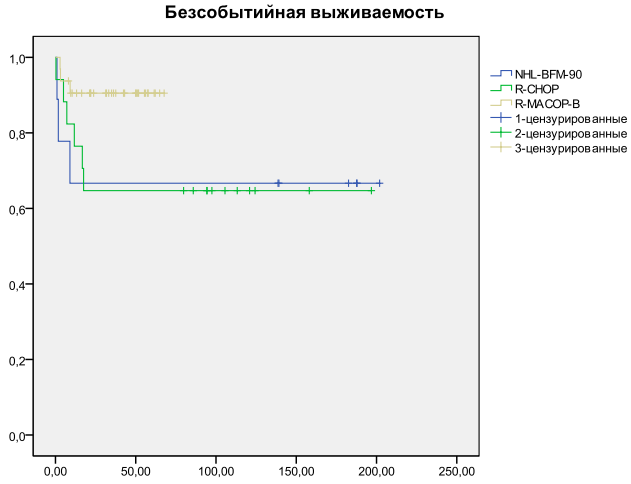


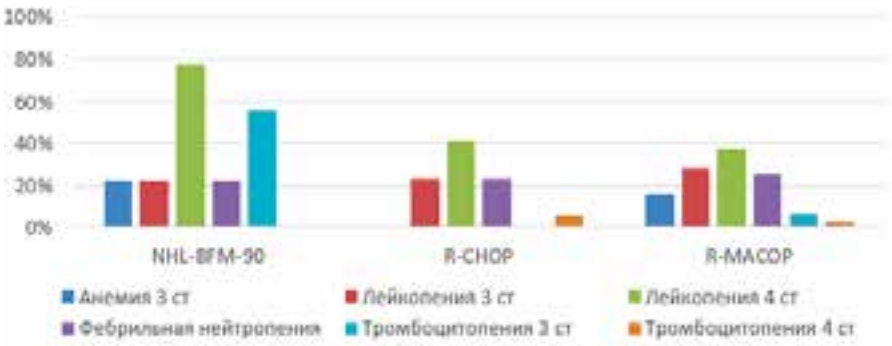
Рисунок 5. БСВ в зависимости от схемы лекарственной терапии (p=0,038)



Токсичность лечения

Наиболее выраженная гематологическая токсичность от терапии была установлена в группе пациентов, проходящих лечение с применением схемы NHL-BFM-90, в группах R-CHOP и R-MACOP-B гематологическая токсичность была сопоставимой (рис. 6)

Рисунок 6. Гематологическая токсичность



Печеночная токсичность также значительно превалировала в группе пациентов, проходивших лечение с применением схемы NHL-BFM-90 - у 79% пациентов была установлена токсичность 3 степени. В группе R-CHOP гепатотоксичность 3 степени была обнаружена у 12% пациентов, в группе R-MACOP-B – у 36% пациентов.

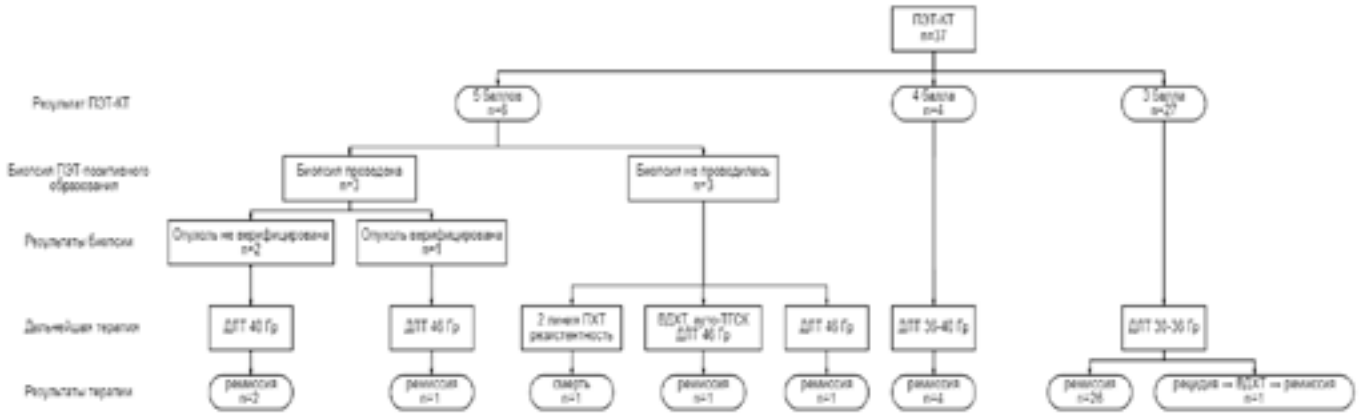
Нами был проведен анализ токсичности с иных органов и систем, представленный на рисунке 7.

Рисунок 7. Иная токсичность

Результаты ПЭТ-КТ

Пациенты, для лечения которых использовались схемы R-CHOP и NHL-BFM-90, получали лечение во время ограниченной доступности ПЭТ-КТ. По этой причине оценка ответа с использованием ПЭТ-КТ в указанной группе больных выполнена только у 3 из 26 пациентов. Всем пациентам, проходившим лечение по схемам R-EPOCH (2 чел.) и R-MACOP-B (32 чел.) выполнялась ПЭТ-КТ для оценки ответа. Роль ПЭТ-КТ в выполнении индивидуальной программы лечения показана на рисунке 8.

Рисунок 8. Влияние ПЭТ-КТ на последовательность реализации программы лечения



После завершения этапа лекарственной терапии 37 пациентов полный метаболический ответ (Ds1-3) был получен у 27 (73%) из них; частичный ПЭТ-позитивный ответ (Ds4) - у 4 (11%); высокая метаболическая активность (Ds5) выявлена у 6 (16%) пациентов и расценена как недостаточный ответ.

При оценке отдаленных результатов терапии из 27 пациентов, достигших ПЭТ-негативного ответа по данным промежуточной ПЭТ-КТ, лишь у одной пациентки было выявлено прогрессирование через 3 месяца после завершения лечения; противорецидивная терапия с включением ниволумаба оказалась эффективной, был достигнут полный ПЭТ-негативный ответ. Таким образом, при достижении ПЭТ-негативного ответа в результате этапа лекарственной терапии ОВ составила 100%, БВ - 96%.

При достижении частичного ответа (Ds4) все больные получили консолидирую лучевую терапию (36-40Гр). Ко времени обобщения материала все пациенты находятся в стойкой ремиссии. Результаты ОВ и БВ - 100%.

Наличие метаболической активности (Ds5) в медиастинальных резидуальных массах после завершения лекарственного этапа лечения было зарегистрировано у 6 (16%) пациентов; морфологическая верификация была технически выполнима в 3 случаях. В 1 случае биоптат представлял собой образец опухолевой ткани, в 2 других морфологическая картина соответствовала некрозу. Обнаружение опухоли в резидуальной ткани повлекло за собой проведение лучевой терапии (46 Гр), достигнута ремиссия. Остальным 2 пациентам

(с признаками некроза в материале биопсии) выполнена консолидирующая лучевая терапия (30 Гр). К 3 пациентам, биопсии у которых не была выполнена в связи с техническими сложностями, применены различные терапевтические подходы: в двух случаях назначена терапия 2 линии, в процессе которой один пациент оказался резистентен к химиотерапии и впоследствии умер от прогрессирования лимфомы, второй получил ВХТ с поддержкой ауто-ТГСК и консолидирующую ЛТ (40Гр). Еще одному пациенту была проведена ЛТ (46Гр), оба пациента находятся в ремиссии. Таким образом, ОВ в группе ПЭТ-негативных пациентов составила 83%.

Обсуждение

Опыт применения в настоящее время в первой линии лечения интенсифицированных схем химиотерапии и высокодозной консолидации показывает, что они сопряжены с высокой токсичностью и повышенным риском развития отдаленных последствий, не обеспечивая при этом 100% результатов. Применение высокодозной импульсной терапии в ФГБУ «НМИЦ гематологии» по схеме NHL-BFM-90 в дебюте заболевания позволило достичь высоких показателей у пациентов с ПМЛ (5-летняя ОВ и БРВ - 92 и 87% соответственно). Тем не менее, из-за высоких доз метотрексата выполнение этой схемы также сопровождалось выраженной токсичностью [11].

Наряду со схемами интенсивной терапии во многих центрах продолжала использоваться схема R-CHOP. Выполнение этой схемы в сочетании с консолидирующей лучевой терапии позволяла достичь при 5-летней медиане наблюдения ВБП и ОВ 81% и 89% соответственно [12]. Схожие результаты лечения по такой же программе были получены и в других исследованиях [13,14].

Внедрение в клиническую практику схемы MACOP-B в комбинации с ритуксимабом позволило получить результаты, не уступающие другим схемам при присоединении к R-MACOP-B консолидирующей лучевой терапии. В работе P.L. Zinzani et al. полный ответ по данным ПЭТ-КТ после 6 циклов R-MACOP-B был получен у 44% пациентов, после 12 циклов – у 62% пациентов, после последовавшей лучевой терапии – у 80% пациентов [15]. Исследование продемонстрировало целесообразность комбинирования схемы R-MACOP-B с лучевой терапией области средостения, что может быть успешной альтернативой более токсичным схемам. Дальнейшие исследования по сочетанию схем MACOP-B с ритуксимабом продолжали демонстрировать высокие показатели полного ответа [16].

Российские клинические рекомендации предлагают в настоящее время как схемы R-CHOP и R-MACOP-B, так и интенсифицированную схему R-DA-EPOCH. В практике российского здравоохранения основной выбор при необходимости лечения больного ПМЛ

клиницисту приходится делать между схемами R-CHOP и R-MACOP-B. Наше исследование демонстрирует близкую токсичность этих схем, однако результативность лечения отличается довольно сильно. Лечение по схеме R-CHOP сопровождалось утратой его эффективности (прогрессия лимфомы в процессе терапии) у 30% пациентов, что делало необходимым замену схемы терапии. При лечении R-MACOP-B это потребовалось лишь для одного пациента, причем причиной прогрессии опухоли стало длительное прерывание терапии из-за коронавирусного заболевания. Кроме того, рецидив заболевания в течение 24 месяцев после окончания лечения по схеме R-CHOP зарегистрирован у 12% больных, в то время как по схеме R-MACOP-B - лишь у 3% пациентов. ВБП составила – 70,5% и 100% соответственно, ВБР – 88% и 97% соответственно. Таким образом, при близких показателях токсичности схема R-MACOP отличается более высокой эффективностью.

С 2016 г. в «НМИЦ гематологии» применяется вариант схемы NHL-BFM-90, модифицированной с целью снижение токсичности. В соответствии с протоколом «ПМЛ-16» пациенты получали блоки А и В схемы «R-mNHL-BFM-90» и фазу консолидации, состоящую из 4 циклов менее токсичной схемы «R-EPOCH». В группе из 34 больных, получавших лечение по протоколу «ПМЛ-16» (18 пациентов), 3- и 5-летняя ОВ и ВБП составили 100 % [17]. Однако уровень осложнений терапии оставался высоким, в частности, гематологическая токсичность 3-4 степени была зарегистрирована у 100% больных протокола «ПМЛ-16». В нашем исследовании лечение по схеме NHL-BFM-90 также сопровождалось тяжелыми осложнениями у большинства пациентов. Наш опыт свидетельствует о том, что терапии по схеме NHL-BFM-90 не дает преимущества по сравнению со схемой R-MACOP-B (ОВ 86% и 100% соответственно), однако следует отметить, что количество пациентов в группе NHL-BFM-90 было недостаточным для получения статистически достоверного результата.

С нашей точки зрения в связи с высоким риском раннего прогрессирования заболевания оправданным является применение консолидирующей лучевой терапии. Вместе с тем, у определенной категории больных преимущество комбинированной химиолучевой терапии остается сомнительным. В пользу отказа от лучевой консолидирующей терапии у пациентов, достигших в результате лекарственного лечения полной ПЭТ-негативной ремиссии, являются результаты крупного проспективного исследования IELSG-37, представленные на Конгрессе Европейской Ассоциации гематологов (EHA) в июне 2023 г. В исследовании с участием 545 пациентов больные с преобладанием интенсифиированных режимов (6 циклов R-CHOP14-21, R-DA-EPOCH, Mega-CHOP, 12 циклов VACOP-B или MACOP-B) с зарегистрированным после иммунохимитерапии ПЭТ-негативным ответом были рандомизированы на 2 группы.

Первую группу составили 132 человек, оставшихся под наблюдением, вторую - 136 пациентов, которым была проведена консолидирующая лучевая терапия (30Гр). При продолжительности наблюдения 30 мес. ОВ составила в группах 96,2% и 98,5%, ВБП - 99,2% и 99,3% соответственно [18,19]. Важно отметить, что подавляющее большинство пациентов получало высокоинтенсивную терапию, поэтому данное исследование нельзя экстраполировать на результаты нашей работы.

Тем не менее, лучевая терапия остается актуальной даже в эпоху современного лекарственного лечения. В нашем исследовании представлен случай применения лучевой терапии как самостоятельной лечебной опции у пациента, лекарственная терапия которого оказалась неэффективной. Проведение лучевой терапии позволило достичь полного контроля над опухолью (отсутствие рецидива заболевания на протяжении 23 месяцев наблюдения). Этот случай демонстрирует высокую чувствительность ПМЛ к лучевой терапии и, следовательно, целесообразность использования ее в качестве терапевтической опции.

Важно отметить, что ПЭТ-негативный результат лекарственной терапии не исключает развития в дальнейшем рецидива заболевания. Чешские авторы в своём исследовании установили, что более чем у 10% пациентов, результаты лекарственной терапии которых трактовались по ПЭТ-КТ как негативные, развивались рецидивы заболевания, что свидетельствует о недостаточно высокой положительной прогностической значимости ПЭТ-КТ для больных ПМЛ [20]. В нашем исследовании это нашло подтверждение тем, что среди пациентов, ответ на лечение которых оценивался по ПЭТ, единственный рецидив был отмечен у пациентки с ПЭТ-негативным результатом лекарственной терапии. Важность этого обстоятельства диктуется тем, что решение о дальнейшей терапии применяется на основании результатов контрольной ПЭТ-КТ.

Кроме того, среди больных с ПЭТ-КТ-позитивным результатом лекарственной терапии высоко количество ложноположительных случаев, что может приводить к необоснованному проведению дополнительной агрессивной терапии. Интересным представляются результаты исследования, в котором у 17 из 36 (50%) больных ПМЛ результаты промежуточной ПЭТ-КТ, расцененные как положительные, не нашли морфологического подтверждения опухоли, за исключением одного случая, что свидетельствует о высокой частоте воспалительных процессов и/или распада опухоли [21]. Итоги этого исследования вполне коррелируют с результатами нашего опыта. Так, из 6 ПЭТ-позитивных (Ds5) больных биопсия активного очага была проведена у 3 пациентов, при этом наличие опухоли было подтверждено только у 1 больного.

Заключение

Наибольшую результативность в сочетании с приемлемой токсичностью продемонстрировала схема R-MACOP-B. Комбинация с дистанционной лучевой терапией позволила добиться снижении токсичности и интенсивности схемы химиотерапии, что поспособствовало снижению показателей токсичности по результатам проведенного лечения. Оценка ответа на терапию с помощью ПЭТ-КТ является достойным прогностическим методом для определения дальнейшей тактики лечения, однако немаловажно уточнение положительных результатов с помощью морфологической верификации при ее доступности.

Источник финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов

Галицына А.Б. – составление и анализ базы данных больных, статистическая обработка материала, написание текста работы

Терехова А.Ю. – анализ базы данных больных, написание текста работы, окончательное редактирование работы

Фалалеева Н.А. - написание текста работы, окончательное редактирование работы

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barth TFE, Leithäuser F, Joos S, Bentz M, Möller P. Mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma: where do we stand? Lancet Oncol. 2002;3(4):229–34.
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375–90.
3. Martelli M, Ferreri A, Di Rocco A, Ansuinelli M, Johnson PWM. Primary mediastinal large B-cell lymphoma. Crit Rev OncolHematol. 2017;113:318–27.
4. Pfau D, Smith DA, Beck R, Gilani KA, Gupta A, Caimi P, et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma: a review for radiologists. Am J Roentgenol. 2019;213(5):W194–210.
5. Zelenetz, A. D., Gordon, L. I., Chang, J. E., Christian, B., Abramson, J. S., Advani, R. H., Bartlett, N. L., Budde, L. E., Caimi, P. F., De Vos, S., Dholaria, B., Fakhri, B., Fayad, L. E., Glenn, M. J., Habermann, T. M., Hernandez-Ilizaliturri, F., Hsi, E., Hu, B., Kaminski, M. S., Kelsey, C. R., … Sundar, H. (2023). NCCN Guidelines® Insights: B-Cell Lymphomas, Version 5.2023.
6. Aoki, T. , Shimada, K. , Suzuki, R. , Izutsu, K. , Tomita, A. , Maeda, Y. , Takizawa, J. , Mitani, K. , Igarashi, T. , Sakai, K. , Miyazaki, K. , Mihara, K. , Ohmachi, K. , Nakamura,

N. , Takasaki, H. , Kiyoi, H. , Nakamura, S. , Kinoshita, T. & Ogura, M. (2015) High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation for relapsed/refractory primary mediastinal large B-cell lymphoma. BloodCancerJournal, 5, e372.
7. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed. Ed. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. Lyon, France: International Agency for Research in Cancer (IARC), 2017].
8. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The international non-Hodgkin lymphoma prognostic factors project. NEJM. 1993;329(14):987–94. doi: 10.1056/nejm199309303291402.
9. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, et al. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. J ClinOncol. 2014;32(27):3048–58. doi: 10.1200/jco.2013.53.5229.
10. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The LuganoClassification. JClinOncol. 2014;32(27):3059–67. doi: 10.1200/JCO.2013.54.8800.
11. Мангасарова Я.К., Магомедова А.У., Кравченко С.К., Шмаков Р.Г., Барях Е.А., Воробьев В.И., Марьин Д.С., Скидан Н.И., Гемджян Э.Г., Мисюрин А.В., Кременецкая А.М., Воробьев А.И. Восьмилетний опыт лечения агрессивных В-крупноклеточных лимфом средостения. Терапевтический архив. 2013;7:50-56).
12. Vassilakopoulos, T. P., Pangalis, G. A., Katsigiannis, A., Papageorgiou, S. G., Constantinou, N., Terpos, E., Zorbala, A., Vrakidou, E., Repoussis, P., Poziopoulos, C., Galani, Z., Dimopoulou, M. N., Kokoris, S. I., Sachanas, S., Kalpadakis, C., Dimitriadou, E. M., Siakantaris, M. P., Kyrtsonis, M. C., Dervenoulas, J., Dimopoulos, M. A., … Angelopoulou, M. K. (2012). Rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone with or without radiotherapy in primary mediastinal large B-cell lymphoma: the emerging standard of care. *Theoncologist*, *17*(2), 239–249.
13. Rieger, M., Österborg, A., Pettengell, R., White, D., Gill, D., Walewski, J., Kuhnt, E., Loeffler, M., Pfreundschuh, M., Ho, A. D., &MabThera International Trial (MInT) Group (2011). Primary mediastinal B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: results of the Mabthera International Trial Group study. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, *22*(3), 664–670.
14. Soumerai, J. D., Hellmann, M. D., Feng, Y., Sohani, A. R., Toomey, C. E., Barnes, J. A., Takvorian, R. W., Neuberg, D., Hochberg, E. P., & Abramson, J. S. (2014). Treatment of primary mediastinal B-cell lymphoma with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone is associated with a high rate of primary refractory disease. *Leukemia&lymphoma*, *55*(3), 538–543.
15. Zinzani, P. L., Stefoni, V., Finolezzi, E., Brusamolino, E., Cabras, M. G., Chiappella, A., Salvi, F., Rossi, A., Broccoli, A., &Martelli, M. (2009). Rituximab combined with MACOP-B or VACOP-B and radiation therapy in primary mediastinal large B-cell lymphoma: a retrospective study. *Clinical lymphoma & myeloma*, *9*(5), 381–385.
16. Zinzani PL, Martelli M, Magagnoli M, et al. Treatment and clinical management of primary mediastinal large B-cell lymphoma with sclerosis: MACOP-B regimen and mediastinal radiotherapy monitored by (67) gallium scan in 50 patients. Blood 1999; 94:3289-93.
17. Gabeeva, etal. (2022). Промежуточные результаты терапии первичной медиастинальной в-крупноклеточной лимфомы по протоколам «ПМЛ-16» И «ПМЛ-

19» # Interim results of the PML-16, PML-19 protocols for primary mediastinal large B-cell lymphoma therapy. Gematologiia i Transfuziologiia. 67. 328-350. 10.35754/0234-5730-2022-67-3-328-350.
18. Davies, A.J., Zucca, E., Ceriani, L., Kryachok, I., Ciccone, G., Botto, B., Balzarotti, M., Tucci, A., Rusconi, C., Usai, S.V., Pennese, E., Arcaini, L., Dabrowska-Iwanicka, A., Ferreri, A.J.M., Merli, F., Zhao, W., Hodgson, D., Rigacci, L., Cellini, C., Stelitano, C., Zaja, F., Guarini, A., Ionescu, C., Spina, M., Fossa, A., Cwynarski, K., Mikhaeel, N.G., Jerkeman, M., Janikova, A., Hüttmann, A., Da Silva, M.G., Stevens, D., Barrington, S., Malkowski, B., Metser, U., Versari, A., Chauvie, S., Ricardi, U., Bagni, O., Di Rocco, A., Gospodarowicz, M., Cavalli, F., Johnson, P.W.M. and Martelli, M. (2023), a randomized trial of observation versus radiotherapy in primary mediastinal b-cell lymphoma patients with complete metabolic response after standard immunochemotherapy. HematologicalOncology, 41: 48-50 https://doi.org/10.1002/hon.3163_19
19. ClinicalTrials.gov [Интернет]. National Library of Medicine (US). 2021-02-17 – Идентификатор : NSC№ 748726, Nivolumab in Combination With Chemo-Immunotherapy for the Treatment of Newly Diagnosed Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma. [процитировано 15.11.2023] Доступно по ссылке : https://clinicaltrials.gov/study/NCT04759586?titles=NSC%20№%20748726&rank=3
20. VítProcházka, LenkaHenzlová, EvaBuriánková, ZuzanaProuzová, Ale□Obr, Martin Novák, JiříMinařík, KarelIndrák, Tomá□Papajík; Prognostic Impact of Interim and Final PET in Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma Treated with Intensive Etoposide-Based Therapy. *Blood* 2014; 124 (21): 1729. doi: https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.1729.1729
21. Lazarovici, J., Terroir, M., Arfi-Rouche, J., Michot, J. M., Mussot, S., Florea, V., Ghigna, M. R., Dartigues, P., Petrovanu, C., Danu, A., Fermé, C., Ribrag, V., &Ghez, D. (2017). Poor predictive value of positive interim FDG-PET/CT in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *44*(12), 2018–2024. https://doi.org/10.1007/s00259-017-3758-5

Контактная информация

Галицына Анастасия Борисовна, студентка 4 курса медицинского факультета ИАТЭ НИЯУ МИФИ [Anastasia Borisovna Galitsyna]; адрес: 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», г. Обнинск, тер. Студгородок, д.1 [address: 249039, Kaluga region, city district "City of Obninsk", Obninsk, ter. Campus, 1]; телефон: 89066438285; ORCID: 0009-0009-0188-8420; eLIBRARY SPIN: 4133-3863; e-mail: galitsyna.anastaisha@gmail.com

Терехова Алена Юрьевна, к.м.н., [Alena Urievna Terekhova, MD, Ph.D.]; e-mail: aterekhova2014@yandex.ru ; ORCID: 0000-0002-7458-0269; eLIBRARY SPIN: 3460-8078

Фалалеева Наталья Александровна, д.м.н., [Natalia Aleksandrovna Falaleeva, MD, Ph.D.]; e-mail: falaleeva-n@mail.ru ; ORCID: 0000-0002-0023-4216; eLIBRARY SPIN: 1431-5452

ОБЛИТЕРИРУЮЩИЕ ФОРМЫ ОТОСКЛЕРОЗА. ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

Е.В. Гаров[1,2], Е.И. Зеликович[1], В.Н. Зеленкова[1], А.Г. Хубларян[1*]

[1]ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ (директор – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков), 117152, г. Москва, Россия

[2]Кафедра оториноларингологии им. академика Б.С. Преображенского лечебного факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ России (зав. кафедрой – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков), 117997, г. Москва, Россия

**e-mail*: alvina.khublaryan@mail.ru

Актуальность. Отосклероз (ОС, oto - «ухо», sclerosis - «уплотнение ткани») характеризуется патологическим очаговым ремоделированием участка костной ткани лабиринта человека, которое включает резорбцию одного или нескольких участков ее плотного энхондрального слоя (отоспонгиоз) с последующим локальным его затвердеванием (отосклероз - ОС). Данное метаболическое поражение костной капсулы ушного лабиринта представлено особой формой остеодистрофии с односторонним или чаще двусторонним поражением. Нормальный эндохондральный слой костной капсулы лабиринта замещается разной плотности губчатого строения костью, что приводит к ограничению подвижности стремечка и снижению слуха. В зависимости от локализации и размера отоочагов заболевание способно как не вызывать никаких симптомов, так и протекать со значительным снижением слуха, вплоть до глухоты. При распространенном характере отоочагов в окнах преддверия лабиринта возникает облитерирующая форма процесса, которая отличается особенностями течения и хирургического лечения [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

Как фенестральная, так и облитерирующая форма ОС у большинства пациентов характеризуется наличием родственников с ОС в том или ином поколении. На сегодняшний день не отмечено взаимосвязи или корреляции встречаемости облитерирующих форм ОС у пациентов с особенностями семейного анамнеза. Генетические исследования показывают, что в большинстве случаев при различных формах ОС обнаруживается аутосомно-доминантный тип наследования патологии [10, 11].

Распространенность ОС среди населения составляет 0,1-0,4% случаев, при этом облитерирующая форма встречается в 1-33% случаев [12, 13, 14, 15, 16]. Наиболее

чаще ОС регистрируется у представителей европеоидной расы. ОС в среднем манифестирует в возрасте 18-30 лет и как правило характеризуется постепенным снижением слуха.

Большинство исследований описывают анкилоз стремени в области переднего полюса как причину тугоухости при ОС (при изолированной форме заболевания), однако нередко в работах отмечена фиксация стремени за счет анкилоза заднего полюса с обнаружением отоочагов в области позадиоконной щели, что в конечном итоге приводило к облитерации основания стремени и в значительной степени осложняло хирургическое лечение (до 21% случаев). Облитерирующая форма заболевания сопровождается особой сложностью хирургического лечения в связи с высокими интраоперационными рисками, послеоперационными кохлеовестибулярными осложнениями, рецидивом кондуктивной тугоухости ввиду возможности реоблитерации. Поражение круглого окна преддверия облитерирующими отоочагами встречается редко и составляет в среднем до 1% случаев [17, 18, 19, 20, 21].

Облитерирующая форма ОС нередко проявляется у пациентов в детском или подростковом возрасте и определяется как «ювенильная» форма ОС [12]. Стоит отметить, что в литературных данных проблема ювенильного ОС представлена не слишком широко, однако этот феномен не теряет своей актуальности не только в связи с определенными трудностями диагностики и хирургического лечения пациентов, но и со склонностью к агрессивному облитерирующему течению (в 42% случаев при выявлении отоочагов у пациентов младше 18 лет) [22, 23]. При этом поздний возраст манифестации клинических симптомов ОС чаще всего ведёт к медленному и ограниченному распространению отоочагов [24]. Как и при фенестральной, облитерирующая форма ОС в 80% случаев характеризуется двусторонним поражением [1, 16].

Отоскопически у пациентов с ОС (при отсутствии сопутствующей ушной патологии) определяется неизмененная или тонкая барабанная перепонка [25, 26, 27].

Тональная пороговая аудиометрия (ТПА) является одним из важнейших исследований при диагностике ОС (еще до появления методов лучевой диагностики), ведь одним из основных признаков у пациентов с данной патологией является снижение слуха. При тимпанальной форме течения ОС нередко встречается кондуктивная или смешанная тугоухость, тогда как при распространении отоочагов в улитке – смешанная или нейросенсорная. Типичным аудиологическим феноменом является «зубец» или «пик» Кархарта, характеризующийся повышением порога

костной проводимости (КП) на частоте 2 кГц на 15 и более Дб, вследствие нарушения микромеханики и гидродинамики в улитке [28, 29, 30, 31, 32, 33].

При неактивном течении фенестральной формы, как правило, костно-воздушный интервал (КВИ) достигает 20-30 дБ [1, 29]. При этом у пациентов с облитерирующей формой ОС величина КВИ достигает более 35-37,5 дБ, а по данным ряда авторов, КВИ 40 дБ и более практически гарантирует обнаружение интраоперационно у пациента распространенной формы ОС [12, 34, 35].

«Золотым» стандартом диагностики ОС является компьютерная томография (КТ) височных костей с денситометрией, которая позволяет диагностировать заболевание, степень его активности и локализацию отоочагов. Немаловажна экспертность врача-рентгенолога и высокое качество изображений для определения тактики лечения, показаний к хирургическому вмешательству и оценки вариантов его выполнения [36, 37, 38, 39, 40]. Как правило, с целью диагностики ОС и его формы КТ височных костей выполняют с шагом не более 0,5-1 мм (ее чувствительность - 80-95%) [41, 42].

В 80% обнаруживают фенестральные очаги, расположенные в впередиоконной щели (участок между средним и внутренним ухом, расположенный перед овальным окном, в эмбриональном периоде заполненн фиброзно-хрящевой тканью) [43, 44, 45].

При облитерирующем ОС отоочаги не ограничиваются расположением лишь впередиоконной фиссуре, распространяясь по всей подножной пластике стремени, равномерно или неравномерно утолщая и уплотняя ее, в конечном итоге стирая очертания периметра ниши овального окна [29, 46, 47, 48].

В 2005 году J. Nadol и M. McKenna была описана классификация облитерации основания стремени, которая характеризовалась 3 степенями поражения отосклеротическими очагами: I степень - равномерное утолщение основания стремени; II – сужение ниши овального окна очагами, располагающимися по периметру основания (с образованием «колодца»); III – массивное разрастание отоочов по всему полю основания стремени (вплоть до исчезновения его очертаний) [49].

Гораздо реже обнаруживают отоочаги в нише круглого окна улитки [50]. В литературе инициация обсуждение облитерации окна улитки возникла по причине неудовлетворительных функциональных результатов после удачно проведенных стапедопластик [51, 52]. В 2011 году Mansour и соавторы обнародовали крупное исследование, в результате которой была определена 5-ти степенная классификация поражения круглого окна отоочагами – в диапазоне от расположения отоочагов по

краю ниши до полного ее заращения с распространением через вторичную мембрану во внутреннее ухо [53].

В 2023 году в научно-исследовательском отделе микрохирургии уха НИКИО им. Л.И. Свержевского совместно с врачами-рентгенологами была предложена новая клинико-рентгенологическая классификация ОС, которая сочетает в себе данные аудиологического и рентгенологического методов исследования. В данной классификации подробно описаны и заключены в степени данные локализации и активности отоочагов, характер снижения слуха, что достаточно индивидуализирует подход и тактику лечения пациентов [54].

Известно, что стапедопластика является одной из наиболее сложных отохирургических операции, требующая осторожной манипуляции на основании стремени. Особенно сложной является стапедотомия и стапедопластика при распространенных формах ОС, поэтому тщательный сбор жалоб и анамнеза пациента, интерпретация аудиологических данных и КТ височных костей позволяют правильно установить диагноз, активность процесса, степень распространенности отоочагов, определить необходимость консервативной (инактивирующей) терапии, а также подготовиться к хирургическому лечению с использованием той или иной методики.

В первой половине 20-го столетия отохирургами считалось опасным проведение стапедотомии со стапедопластикой у пациентов с облитерирующей формой ОС, в связи с чем операция оканчивалась при интраоперационном обнаружении. распространённой формы ОС. Это было обусловлено высоким риском кохлеарных осложнений в сравнении с фенестральным ОС (7-10% против 1-2%) [15, 55].

В наше время современные методы ассистенции (моторные системы микроборов, лазерные установки) позволяют проводить стапедопластику у пациентов при облитерирующей форме ОС эффективнее и безопаснее, обеспечивая лучший функциональный результат и снижение риска периоперационных и послеоперационных осложнений. Однако при облитерирующей форме ОС после хирургического лечения чаще возникают лабиринтные осложнения в сравнении с фенестральными формами [16]. Рецидив тугоухости при этой форме ОС встречается в 2 раза чаще, чем при изолированной (12 и 6,4%, соответственно) и обусловлен реоблитерацией подножной пластинки стремени отоочагами, а частота возникновения нейросенсорной тугоухости вплоть до глухоты в 10 раз чаще (4,8 и 0,4%, соответственно) [4, 34, 56, 57].

Цель исследования: анализ методов диагностики и эффективности результатов стапедопластики при облитерирующей форме ОС.

Задачи: 1. Анализ данных диагностики (ТПА, КТ височных костей) пациентов с облитерирующей формой ОС;

2. Оценка вариантов хирургического лечения и функциональных результатов у пациентов с облитерирующей формой ОС.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ 1899 стапедопластик у больных ОС, которые были выполнены в Институте с 2015 по 2023 гг. Для исследования были отобраны и проанализированы данные ТПА до хирургического лечения и через 7 дней после операции, результаты КТ височных костей и интраоперационных находок 97 пациентов с облитерирующей формой ОС.

Результаты исследования. Облитерирующая форма ОС была выявлена в 97 случаях (5,1%), с облитерацией круглого окна (КО) – в 12 случаях. Хирургическое лечение выполнялось при условии неактивной стадии процесса по данным КТ височных костей (плотность очагов ОС - более 900 HU). В 61 (62,9%) случае выявлена I степень облитерации основания стремени (по классификации J. Nadol, M. McKenna, 2005), в 22 (22,7%) – II и в 14 (14,4%) - III. Для стапедотомии (этап фенестрации подножной пластинки) использовалась бесконтактная CO2-лазерная система (Lumenis), а при II-III степени облитерации и микроборы (Skeeter) для расширения ниши овального окна и истончения подножной пластинки стремени перед лазерной фенестрацией [58]. При облитерации КО проводилось расширение ниши алмазной фрезой диаметром 0,5 мм до визуализации секундарной мембраны и определения передачи на неё колебаний с основания стремени (в 12 случаях).

В 33 (34%) случаях была выполнена поршневая методика стапедопластики (наиболее распространенная методика при облитерирующих формах у зарубежных коллег, Gristwood R., 2008), в 51 (52,6%) – установка титанового протеза стремени (4,25×0,4-0,6 мм) на аутовенозный трансплантат и в 13 (13,4%) - методика установки аутохрящевого протеза (3.5 мм) на аутовенозный трансплантат.

Средние значения КВИ у обследованных пациентов до хирургического лечения составили 36 дБ, пороги КП в диапазоне речевых частот (от 0,5 до 4 кГц) аудиометрической тон-шкалы – 25,4 дБ. Через 1 неделю после операции в раннем послеоперационном периоде средние значения КВИ составили 19 дБ, а средние значения КП - 28 дБ. Через 1 год среднее значение КВИ у пациентов улучшилось и составило 12 дБ, а значения КП - 23,5 дБ (что превосходит дооперационные показатели). При этом КВИ ≤10 дБ отмечался у 57,5%, ≤20 дБ - у 25,5% и ≤30 дБ - у 17% больных.

Выводы. Заподозрить облитерацию основания стремени при ОС можно по данным аудиологического исследования, однако объективным методом подтверждения этой патологии является КТ височных костей. Тщательная диагностика различных, в том числе облитерирующих, форм ОС на дооперационном этапе позволяет хирургу подготовиться к оперативному вмешательству, планировать рациональные средства ассистенции в зависимости от стадии облитерации, что приведет к безопасному достижению отличных результатов (КВИ ≤10 дБ) у 57,5% и хороших (КВИ ≤20 дБ) - у 25,5% больных без изменения порогов КП через год после операции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ayache, D., Sleiman, J., Plouin-Gaudon, I., Klap, P., Elbaz, P. Obliterative otosclerosis. Laryngol Otol. 1999; 113(6): 512-514. doi: 10.1017/s0022215100144378
2. Browning G., Gatehouse S. Sensorineural hearing loss in stapedial otosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1984; 93(1 Pt 1): 13-16.
3. Linthicum F. Histopathology of otosclerosis. Otolaryngol Clin North Am. 1993; 26: 335–352.
4. Malafronte G., Filosa B., Gantone E. New macroscopic classification of stapedio-ovalar otosclerosis: a simplified rating for training in stapedotomy. Otol Neurotol. 2008; 29: 889- 892. https://doi.org/10.1097/mao.0b013e31818201de
5. Markou K., Goudakos J. An overview of the etiology of otosclerosis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2009; 266(1): 25-35.
6. Perez-Lazaro J., Urquiza R., Cabrera A., Guerrero C., Navarro E. Effectiveness assessment of otosclerosis surgery. Acta Oto-Laryngol. 2005; 125: 935-945. https://doi.org/10.1080/00016480510038202
7. Niedermeyer H., Arnold W. Otosclerosis and measles virus - association or causation? ORL 2008; 70(1): 63-70.
8. Rudic M., Keogh I., Wagner R., Wilkinson E., Kiros N., Ferrary E., Sterkers O., Bozorg Grayeli A., Zarkovic K., Zarkovic N. The pathophysiology of otosclerosis: review of current research. Hear Res. 2015; 330(Pt A): 51-56.
9. Zafar N., Jamal Z., Khan MAB. Otosclerosis. 2022 Jul 25. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. PMID: 32809506
10. Crompton M., Cadge B., Ziff J., Mowat A., Nash R., Lavy J., Powell H., Aldren C., Saeed S., Dawson S. The epidemiology of otosclerosis in a British cohort. Otol Neurotol. 2019; 40(1): 22-30.
11. Зеленкова В.Н. Лазерная стапедопластика у больных отосклерозом: Автореф. дисс... канд. мед. наук. М. 2013: 29.
12. Gristwood R., Bedson J. Observations on bilateral symmetry of the stapedial footplate lesion and narrowing of the oval window niche in otosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2008; 117(8): 569-573. https://doi.org/10.1177/000348940811700803
13. Karosi T., Szekanecz Z., Sziklai I. Otosclerosis: an autoimmune disease? Autoimmun Rev 2009; 9: 95–101.
14. Nicolas K., Mansour S., Ahmad H. Round window otosclerosis: radiologic classification and clinical correlations. Otol Neurotol. 2011; 32(3): 384-392. https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e3182096e80
15. Sennaroğlu L., Genç A. Is it possible to predict diffuse obliterative otosclerosis preoperatively by audiologic examination. Int J Audiol. 2007; 46(5): 203-207. doi: 10.1080/14992020601145302
16. Sennaroğlu L., Genç A. Is it possible to predict diffuse obliterative otosclerosis preoperatively by audiologic examination. Int J Audiol. 2007; 46(5): 203-207. doi: 10.1080/14992020601145302

17. Perez-Lazaro J, Urquiza R, Cabrera A, Guerrero C, Navarro E. Effectiveness assessment of otosclerosis surgery. Acta Oto-Laryngol. 2005; 125: 935-945. https://doi.org/10.1080/00016480510038202
18. Gristwood R, Bedson J. Observations on bilateral symmetry of the stapedial footplate lesion and narrowing of the oval window niche in otosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2008; 117(8): 569-573. https://doi.org/10.1177/000348940811700803
19. Karosi T, Szekanecz Z, Sziklai I. Otosclerosis: an autoimmune disease? Autoimmun Rev 2009; 9: 95–101
20. Vincent R., Sperling N., Oates J., Jindal M. Surgical findings and long-term hearing results in 3,050 stapedotomies for primary otosclerosis: a prospective study with the otology-neurotology database. Otol Neurotol. 2006; 27(8 Suppl 2): 25-47. doi: 10.1097/01.mao.0000235311.80066.df. PMID: 16985478
21. Silverstein H., Hoffmann K., Thompson J., et al. Hearing outcome of laser stapedotomy minus prosthesis (STAMP) versus conventional laser stapedotomy. Otol Neurotol 2004; 25: 106–111.
22. Swartz J., Harnsberger H. Imaging of temporal bone. New YorkStuttgart: Thieme; 1998: 497.
23. Fancello V., Sacchetto L., Bianchini C., Ciorba A., Monzani D., Palma S. Management of juvenile otosclerosis: a systematic review. Children (Basel). 2022; 9(11): 1787. doi: 10.3390/children9111787.
24. Fitzgerald D. The aging ear. Am Fam Physician. 1985; 31(2): 225-232.
25. Sakai O., Curtin H., Hasso A., et al. Otosclerosis and dysplasias of the temporal bone. In: Som PM, Curtin HD, eds. Head and Neck Imaging. 4th ed. St. Louis: Mosby. 2003: 1245–1273.
26. Metasch M., Plontke S., Zirkler J. et al. Diagnostik and operative therapie der otosklerose. Teil1: Grundlagen, Diagnostik und Differentialdiagnostik. Laryngo-Rhino-Otol. 2018; 97: 563–578.
27. Lippy W., Berenholz L. Pearls on otosclerosis and stapedectomy. Ear Nose Throat J. 2008; 87(6): 326–328.
28. Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гаров Е.В., Зеликович Е.И., Сидорина Н.Г., Загорская Е.Е., Федорова О.В., Зеленкова В.Н., Куриленков Г.В., Киселюс В.Э. Современная диагностика больных отосклерозом. Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae. 2019; 25(2): 29-43. https://doi.org/10.33848/foliorl23103825-2019-25-2-29-43
29. Преображенский Н.А., Патякина О.К. Стапедэктомия и стапедопластика при отосклерозе. М.: Медицина; 1973: 272.
30. Kashio A., Ito K., Kakigi A., Karino S., Iwasaki S., Sakamoto T., Yasui T., Suzuki M., Yamasoba T. Carhart notch 2-kHz bone conduction threshold dip: a nondefinitive predictor of stapes fixation in conductive hearing loss with normal tympanic membrane. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2011; 137(3): 236-240.
31. Foster M., Backous D. Clinical evaluation of the patient with otosclerosis. Otolaryngol Clin N Am 2018; 51: 319–326.
32. Carhart R. Clinical application of bone conduction audiometry. Archives of Otolaryngology 1950; 51: 798–808.
33. Perez R., de Almeida J., Nedzelski J. M. Variations in the «Carhart notch» and overclosure after laser-assisted stapedotomy in otosclerosis. Otol. Neurotol. 2009; 8(30): 1033-1036.
34. Sato T., Morita N., Cureoglu S., Terao K., Joglekar S., Deroee A., Ishikawa K., Paparella M. Cochlear otosclerosis adjacent to round window and oval window: a histopathological temporal bone study. Otol Neurotol. 2010; 31(4): 574-579. https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e3181d8d73b
35. Genç A., Sennaroğlu L. Is it possible to predict diffuse obliterative otosclerosis preoperatively by audiologic examination. Intern J Audiology. 2007; 46(5): 203–207. doi:10.1080/14992020601145302
36. Lagleyre S., Sorrentino T., Calmels M., Shin Y., Escude B., Deguine O., Fraysse B. Reliability of high-resolution CT scan in diagnosis of otosclerosis. Otol Neurotol. 2009; 30(8): 1152-1159. https://doi.org/10.1097/mao.0b013e3181c2a084
37. Marx M., Lagleyre S., Escudé B., Demeslay J., Elhadi T., Deguine O., Fraysse B. Correlations between CT scan findings and hearing thresholds in otosclerosis. Acta Oto-Laryngologica. 2011; 131: 351-357. https://doi.org/10.3109/00016489.2010.549841

38. Naumann C., Porcellini B., Fisch U. Otosclerosis: incidence of positive findings on high-resolution computed tomogphy and their correlation to audiological test data. Ann Otol Rhinol Laringol. 2005; 114(9): 709-716. https://doi.org/10.1177/000348940511400910
39. Shea J. How I do primary and revision stapedectomy. AJO, 1994; 15, 7173.
40. Wiet R., Harvey S., Bauer G. Complications in stapes surgery. Otolaryngol Clin N Am. 1993; 26(3): 471-490.
41. Veillon F., Stierle J., Dussaix J., et al. Otosclerosis imaging: matching clinical and imaging data. J Radiol. 2006; 87: 1756Y64.
42. Priya S., Singh P., Upreti L., Vaid L. High resolution computed tomography in stapedial otosclerosis. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2013; 65(Suppl 3): 505.
43. Lee T., Aviv R., Chen J., Nedzelski J., Fox A., Symons S. CT grading of otosclerosis. AJNR Am J Neuroradiol. 2009; 30(7): 1435-1439.
44. Marshall A., Fanning N., Symons S., Shipp D., Chen J., Nedzelski J. Cochlear implantation in cochlear otosclerosis. Laryngoscope. 2005; 115: 1728 –1733.
45. Viza Puiggrós I., Granell Moreno E., Calvo Navarro C., Bohé Rovira M., Orús Dotu C., Quer I Agustí M. Diagnostic utility of labyrinth capsule bone density in the diagnosis of otosclerosis with high resolution tomography. Acta Otorrinolaringol Esp (Engl Ed). 2020; 71(4): 242-248. doi: 10.1016/j.otorri.2019.09.004.
46. Gulya A., Minor L., Poe D. Glasscock-Shambaugh Surgery of the Ear. People's Medical Publishing House-USA; 2010: 801.
47. Rudic M., Keogh I., Wagner R., Wilkinson E., Kiros N., Ferrary E., Sterkers O., Bozorg Grayeli A., Zarkovic K., Zarkovic N. The pathophysiology of otosclerosis: Review of current research. Hear Res. 2015; 330(Pt A): 51-56
48. Крюков А.И., Гаров Е.В., Загорская Е.Е., Зеленкова В.Н., Сударев П.А. Современное лечение больных отосклерозом. Русский медицинский журнал. 2012; 9: 441-443.
49. Nadol J., Mckenna M. Surgery of the ear and temporal bone. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005: 292.
50. Roland P., Meyerhoff W. Otosclerosis. In: Bailey BJ, ed. Otolaryngology Head and Neck Surgery. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1829Y41
51. Hueb M., Goycoolea M., Paparella M., Oliveira J. Otosclerosis: the University of Minnesota temporal bone collection. Otolaryngol Head Neck Surg 1991; 105: 396–405.
52. Nadol J. Histopathology of residual and recurrent conductive hearing loss after stapedectomy. Otol Neurotol. 2001; 22: 162Y9
53. Mansour S., Nicolas K., Ahmad H. Round window otosclerosis: radiologic classification and clinical correlations. Otol Neurotol. 2011; 32(3): 384-392. doi: 10.1097/MAO.0b013e3182096e80.
54. Крюков А.И., Гаров Е.В., Зеликович Е.И., Сидорина Н.Г., Загорская Е.Е., Федорова О.В., Зеленкова В.Н., Куриленков Г.В., Мосейкина Л.А., Калошина А.С., Киселюс В.Э., Сударев П.А., Гарова Е.Е. Клинико-рентгенологическая классификация отосклероза. Вестник оториноларингологии. 2023; 88(5): 12–18. https://doi.org/10.17116/otorino202 38805112
55. Gristwood R., Venables W. Otosclerotic obliteration of oval window niche: an analysis of the results of surgery. J Laryngol Otol. 1975; 89(12):1185-217. doi: 10.1017/s0022215100081573
56. Conway R., Sioshansi P., Babu S., Tu N., Schettino A., Bojrab D., Schutt C. Audiologic outcomes of footplate drillout for obliterative otosclerosis. Otol Neurotol. 2022; 43(1): 29-35. doi: 10.1097/MAO.0000000000003361
57. Fish U. Tympanoplasty, mastoidectomy and stapes surgery. Stuttgart-New York: Thieme Verlag; 1994: 240.
58. Крюков А.И., Гаров Е.В., Зеленкова В.Н., Киселюс В.Э., Хубларян А.Г., Ковтун О.В. Патент на изобретение №2808362 от 28.11.2023 г. «Способ комбинированной ассистенции при хирургическом лечении пациентов с облитерирующей формой отосклероза при II-III степени облитерации ниши овального окна». Заявка № 2023105767 от 13.03.2023 г. Бюл. 34.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ДЕРМОИДНЫХ КИСТ СРЕДНЕГО УХА И ПОДВИСОЧНОЙ ЯМКИ

Х. М. А. Диаб[1,2], О.А. Пащинина[1], Т.В. Фионова[1], А.Е. Михалевич[1]

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России, Москва, 123182, Россия

[2]ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Министерства Здравоохранения РФ, Москва, 117197, Россия

Реферат. Дермоидная киста среднего уха - это инкапсулированное полостное образование, имеющее преимущественно врожденный характер развития. Манифестация клинических проявлений возникает у детей в возрасте до 5 лет и сопровождается снижением слуха, заложенностью в ухе и гноетечением. Диагностика заболевания затруднительна ввиду схожести его патологического процесса с холестеатомой барабанной полости. Основным методом лечения дермоидов является хирургическое иссечение кисты. Тактика оперативного лечения однозначно не определена в связи с низкой распространенностью заболевания и ошибками в предварительной диагностике. Цель настоящего исследования заключалась в повышении качества оперативного лечения пациентов на основании изучения диагностических критериев заболевания, определения оптимального хирургического подхода для удаления новообразования и профилактики рецидива патологического процесса. По результатам исследования определены диагностические признаки дермоидов барабанной полости, проведена оценка интраоперационных находок, анатомических и функциональных исходов проведенного лечения.

Актуальность. Дермоидная киста (ДК, дермоид) - это доброкачественное полостное новообразование, стенки которого образованы плоским стратифицированным эпителием с включением аднексальных структур кожи, а именно волосянных фолликул, потовых и сальных желез. Полость кисты содержит кератин и десквамированные клетки эпителия внутреннего слоя стенки ДК, а также продукты экзокринной секреции кожных желез [1,2].

Для дермоидных кист наиболее характерна локализация в области головы и шеи, копчика и в полости яичников. Развитие ДК в полостях височной кости встречается редко (от 1 до 10% случаев) и обычно поражает барабанную полость, сосцевидный отросток, слуховую трубу и верхушку пирамиды височной кости. [3,4,5]. Данная патология наиболее распространена среди детей с частотой 3 на 10 000 [4].

Различают врожденные и приобретенные ДК. Для приобретенных кист характерна травматическая имплантация части кожи в более глубокие слои. ДК среднего уха и евстахиевой трубы носят врожденный характер и образуются в месте контакта энтодермальной поверхности первого глоточного мешка и эктодермальной поверхности первой жаберной щели. Барабанная полость и евстахиева труба развиваются из дистальной и проксимальной частей первого глоточного мешка; наружный слуховой проход формируется из дорсального конца первой жаберной щели. На 4 неделе гестации эти два зародышевых листка находятся в тесном контакте друг с другом. К шестой неделе эмбриогенеза контакт между данными слоями зародышевых клеток теряется из-за внедрения между ними мезодермы, которая образует слуховые косточки. Включение эктодермы первой бранхиальной щели в энтодермальную выстилку первого глоточного мешочка до внедрения мезодермы приводит к развитию врожденных дермоидов барабанной полости и евстахиевой трубы [6].

ДК растут медленно, в связи с чем заболевание длительное время протекает латентно. Увеличиваясь в размерах, дермоиды распространяются экстратимпанально в подвисочную ямку и парафарингеальное пространство, тем самым разрушая прилежащие топографо-анатомические структуры. Капсула кисты также имеет плотную связь с адвентицией внутренней сонной артерии (ВСА) в случае деструкции ее костного канала [2].

Рецидивирующее гноетечение и снижение слуха являются наиболее распространенными жалобами при поражении среднего уха дермоидной кистой. При отоскопии барабанная перепонка может быть как перфорирована, так и интактна; в НСП могут определятся белые массы и слизисто-гнойное отделяемое [4]. Такие неспецифические клинические проявления заболевания затрудняют первичную диагностику, что приводит к постановке неверного диагноза.

Для дополнительной диагностики заболевания используются МСКТ височных костей и МРТ головного мозга. На компьютерной томографии дермоидные кисты сложно дифференцировать от других образований со схожим строением, т.к. они выглядят как образования низкой плотности с возможными участками кальцификации по периферии. Содержимое ДК может варьироваться, что влияет на интенсивность сигнала при МРТ-исследовании, именно поэтому дермоидная киста в режимах Т1 и Т2 может иметь изоинтенсивный и гипоинтенсивный сигнал, а в некоторых случаях и гиперинтентивный сигнал, при этом никак себя не проявляя при введении контрастного вещества. Ввиду низкой распространенности заболевания и неспецифической

клинической картины нюансы диагностики и тактика оперативного лечения однозначно не определены [7,8].

Хирургическое лечение является основным и заключается в полном удалении ДК среднего уха. Необходима тщательная санация барабанной полости и иссечение ножки кисты, которая чаще всего располагается в области глоточного устья слуховой трубы или в подвисочной ямке. Однако, плотная адгезия капсулы кисты к жизненно-важным сосудисто-нервным структурам (ВСА, лицевой нерв, луковица внутренней яремной вены (ЛЯВ)) и ее экстратемпоральное распространение осложняют ход оперативого лечения. В связи с данными особенностями заболевания целесообразно определить хирургический доступ и дополнительно использовать современные технологии в виде эндоскопической ассистенции и хирургической навигации для профилактики ятрогенных осложнений и рецидива [3].

Цель исследования. Повышение качества хирургического лечения пациентов с врожденными дермоидными кистами среднего уха и подвисочной ямки за счет оценки предоперационных методов исследования и определения оптимальной хирургической тактики.

Материалы и методы. В настоящее исследование было включено 10 пациентов с врожденными дермоидными кистами среднего уха, которым было проведено обследование и хирургическое лечение на базе НМИЦО ФМБА России за период с 2020 по 2023 год. Из них 7 женщин и 3 мужчин. Средний возраст больных составил 18+-3,63 лет. Критериями включения в исследование были пациенты с гистологически подтвержденным диагнозом дермоидная киста. Исключение составили пациенты с холестеатомой и холестериновой гранулемой височной кости. Было проанализировано 50 медицинских карт, из которых отобраны пациенты данной группы согласно критериям включения в исследование. Оценивались результаты предоперационного обследования, а именно данные отоскопии, аудиологических методов исследования, функции лицевого нерва, МСКТ височных костей и МРТ головного мозга. Всем больным проводилось хирургическое лечение с использованием современного операционного оборудования - системы электромагнитной хирургической навигации и нейромониторинга лицевого нерва, - а также последующий рентгенологический контроль. Статистический анализ и обработка данных выполнена при помощи программы MS Excel, SPSS Statistic 24.0.

Результаты. Из исследуемых пациентов 4 больных были госпитализированы впервые, а 6 пациентам ранее уже проводилось хирургическое лечение в других

медицинских учреждениях, которое не давало положительного эффекта. При отоскопии у ранее не оперированных пациентов определялась интактная барабанная перепонка в двух случаях, перфорация и слизисто-гнойное отделяемое также у двух больных. Несостоятельность неотимпанальной мембраны у ранее оперированных больных выявлялась во всех случаях, при этом пролабирование мягкотканного образования в просвет наружного слухового прохода (НСП) было у 4 пациентов. Из 6 ранее оперированных пациентов в 4 случаях проводилась радикальная операция. Дисфункция слуховой трубы различной степени вследствие механической обтурации ее тимпанального устья присутствовала у каждого больного в исследуемой группе. Тональная пороговая аудиометрия была выполнена у 8 пациентов, 2 больным проведено исследование слуха во сне в связи с ранним детским возрастом. Данные аудиологического обследования выявляли нарушения звукопроводящего аппарата среднего уха различной степени, представленные в таблице 1. Из сопутствующей неврологической симптоматики чаще всего отмечались жалобы на головную боль и субъективный шум в ушах.

Таблица 1. Нарушение слуха у исследуемых пациентов

Тип нарушения слуха Степень тугоухости	Кондуктивная тугоухость, чел.	Смешанная тугоухость, чел.	Сенсоневральная тугоухость, чел.
1 степень	2	-	-
2 степень	3	1	-
3 степень	3	1	-
4 степень	-	-	-

По результатам лучевых методов исследования выявлялось объемное образование височной кости с выраженными костно-деструктивными изменениями. Характер образования и его содержимое, дифференциальная диагностика проводились с использованием МРТ-исследования в Т1, Т2, DWI и контрастным усилением. На основании данных рентген диагностики определили наиболее характерные признаки дермоидной кисты, а именно: расположение в области про- и гипотимпанума с распространением в слуховую трубу и подвисочную ямку, эрозия прилежащих костных стенок, отсутствие накопления контраста и ограничения диффузии, а также наличие

капсулы кисты с гиперинтенсивным сигналом в Т2 ВИ (таб. 2 и таб. 3)

Таблица 2. КТ-признаки дермоидной кисты среднего уха

КТ-признаки	Частота встречаемости, %
Тип строения сосцевидного отростка: Пневматический	60%
Смешанный	10%
Склеротический	20%
Дефект канала лицевого нерва	20%
Дефект костного канала ВСА	70%
Дефект костного канала ЛЯВ	40%
Блок тимпанального устья слуховой трубы	100%
Деструкция костных стенок гипотимпанума	20%
Деструкция отической капсулы	-
Дефекты СЧЯ и ЗЧЯ	-

Таблица 3. МРТ-признаки дермоидной кисты среднего уха

МРТ-признаки	Частота встречаемости, %			
	Т1	Т2	DWI	Контраст
Гиперинтенсивный сигнал	80%	80%	-	-
Изоинтенсивный сигнал	10%	20%	-	-
Гипоинтенсивный сигнал	10%	-	-	-

У всех пациентов применялся заушный доступ, при этом трансканальный подход с расширенной каналопластикой и истончением передней стенки НСП использовался в 5 случаях, а трансмастоидальный подход - у 5 пациентов. Таким образом формировался широкий доступ для адекватной достаточной визуализации операционного поля и контроля удаления новообразования без проведения радикальной операции, что позволяло сохранять архитектонику структур височной кости. Истончение передней стенки НСП до уровня костной пластинки височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) проводилось с целью доступа к передним отделам барабанной полости, в то время, как скелетизация ВСА облегчала визуализацию и удаление новообразования из

подвисочной ямки. Интраоперационные находки соответствовали данным лучевых методов исследования (таблица 4). Кисты во время операции отделялись от стенок барабанной полости, ВСА, ЛЯВ единым блоком с последующим удалением ножки из подвисочной ямки под контролем навигационной системы. Случаев повреждения ВСА не было. Результаты нейромониторинга лицевого нерва указывали на сохранение его функции. На завершающем этапе операции выполнялась реконструкция цепи слуховых косточек при необходимости, во всех случаях проводилась тимпанопластика по технике underlay. Анатомические результаты хирургического лечения оценивались спустя 3, 6 и 12 месяцев. За “хорошие” исходы принимались: целая, состоятельная неотимпанальная мембрана, находящаяся на естественном уровне без притупления переднего меатотимпанального угла, нормальная кожная выстилка на всех стенках НСП, достаточная ширина НСП без тенденции к стенозированию. В ближайшем послеоперационном периоде анатомические результаты лечения характеризовались как “хорошие” у каждого пациента. Функциональные результаты оценивались по данным тональной пороговой аудиометрии через 3, 6 и 12 месяцев. У всех пациентов отмечалась положительная динамика в виде сокращения костно-воздушного интервала. На контрольных снимках КТ и МРТ через 6 и 12 месяцев после хирургического лечения признаков рецидива не выявлено.

Таблица 4. Интраоперационные находки

Интраоперационные находки	Частота встречаемости, %
Деструкция слуховых косточек	20%
Отсутствие цепи слуховых косточек после ранее перенесенного оперативного лечения	40%
Деструкция канала ВСА	70%
Спаянность с адвентицией ВСА	70%
Деструкция костной стенки ЛЯВ	40%
Деструкция тимпанальной части ЛН	20%
Деструкция отической капсулы	-
Деструкция костной пластинки ВНЧС	20%
Деструкция костного отдела слуховой трубы	90%
Реконструкция цепи слуховых косточек	60%
Реконструкция дефектов ЗЧЯ и СЧЯ	-

Обсуждение. Дермоидные кисты височной кости - редкая патология, не имеющая специфических клинических проявлений, что вызывает затруднения в постановке предварительного диагноза и дальнейшего лечения пациентов. Диагностические критерии согласно лучевым методам исследованиям показывают наличие мягкотканного образования в передних отделах барабанной полости. Проведенный анализ КТ-исследований указывал на наличие деструктивных изменений прилежащих костных структур. Данные МРТ головного мозга в большинстве случаев демонстрировали гиперинтенсивный сигнал в Т1-ВИ за счет присутствия в их полости жировых компонентов, а также наличие капсулы с гиперинтенсивным сигналом и содержимым различной плотности в Т2-ВИ. Ограничения диффузии в DWI-режиме и накопления контрастного вещества выявлено не было.

Дермоиды характеризуются отсутствием инвазии в сосудистые структуры, что позволяет удалять их единым блоком без повреждения. Особенность расположения кисты преимущественно в области про- и гипотимпанума диктует тактику хирургического подхода с расширенной каналопластикой передней стенки НСП и сохранением анатомии ретротимпанальных отделов, а также цепи слуховых косточек. При этом сокращается период послеоперационной реабилитации пациентов и снижается риск возникновения “болезни оперированного уха”. Реконструкция цепи слуховых косточек выполняется в зависимости от типа применяемой оссикулопластики, а высота имплантата подбирается с учетом уровня расположения неотимпанальной мембраны. Основываясь на нашем опыте лечения данной патологии у первично диагностированных пациентов, можно сделать вывод в отсутствии необходимости гипердиагностики и радикального подхода к операции.

Заключение. Результаты хирургического лечения, по крайней мере у части больных, срок наблюдения которых 6 месяцев и более, вызывают сдержанный оптимизм, что характеризует описанный метод удаления дермоидных кист достаточно эффективным с минимальным риском повреждения ВСА и других осложнений, а также сохраняет аудиологическую функцию пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Intracranial Dermoid Cyst Ruptured into the Membranous Labyrinth Causing Sudden Sensorineural Hearing Loss: CT and MR Imaging Findings / Y.C. Koh [et al.] // AJNR. American journal of neuroradiology. - 2012. - Vol. 33. - N5. - E69–E71 P.

2. Evolution of epidermoid cyst into dermoid cyst: Embryological explanation and radiological-pathological correlation / P. Balasundaram [et al.] // The neuroradiology journal. - 2019. - Vol 32. - N 2. - 92–97 P..
3. G. Kuran, D. Yazici Endoscopic Transnasal Transpterygoid Excision of an Infratemporal Dermoid Cyst / J Craniofac Surg. - 2017. - Vol. 28. - N 4. - 951-954 P.
4. Mastoid Abscess in a Child With Eustachian Tube Dermoid Cyst / N. A. M. Zulkefli [et al.] // Cureus. - 2021. - Vol. 13. - N 5. - e15326.
5. Endoscopic transnasal resection of Eustachian-tube dermoid in a new-born infant / D. Lepera [et al.] // Auris Nasus Larynx. - 2015. - N 42. - 235–240 P.
6. Dermoids of the eustachian tube: CT and MR findings with histologic correlation / S.S. Kollias [et al.] // AJNR Am J Neuroradiol. - 1995. - N 16. - 663–668 P.
7. An Intracranial Extradural Dermoid Cyst Presenting with Two Dermal Sinuses and an Abscess in a Child / A. Albastaki [et al.] // Case Rep Neurol Med. - 2021. - N 2021. - 9917673.
8. Conventional and advanced MR imaging findings in a cohort of pathology-proven dermoid cysts of the pediatric scalp and skull / B. L. Serrallach [et al.] // Neuroradiol J. - 2022. - Vol. 35. - N 4. - 497–503 P.

Контактная информация

Диаб Хассан Мохамад Али – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник научно-клинического отдела заболевания уха и основания черепа ФГБУ НМИЦ оториноларингологии ФМБА России. Россия, 123182, Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 2; тел.: 8-919-101-33-00, e-mail: Hasandiab@mail.ru. ORCID: 0000-0001-5337-3239

Пащинина Ольга Александровна – к.м.н., заведующая отделением заболевания уха и основания черепа ФГБУ НМИЦ оториноларингологии ФМБА России. Россия, 123182, Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 2; тел.: 8-916-024-83-83, e-mail: olga83@mail.ru ORCID: 0000-0002-7188-3280

Фионова Татьяна Вадимовна - аспирант научно-клинического отдела заболевания уха и латерального основания черепа ФГБУ НМИЦ оториноларингологии ФМБА России. (Россия, 123182, Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 2); тел.: 8-981-980-98-31, e-mail: fionova-tatiana@mail.ru ORCID: 0000-0001-6369-4773

Михалевич Антон Евгеньевич - к.м.н., старший научный сотрудник отдела патологии уха и основания черепа НМИЦ оториноларингологии ФМБА России, адрес: Россия,123182, Москва, ул. Волоколамское шоссе, 30, корп. 2 тел.: 8-926-104-90-45; e-mail: MikhalevichAE@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9081-6016.

ПОЛОВЫЕ И ВОЗРАСТНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Р.М. Динов, врач-ординатор 1-го года, **Я.А. Эрперт,** врач-ординатор 1-го года

Научный руководитель: д.м.н., профессор И.Г. Гатауллин

КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Казань

Введение. Рак желудка (РЖ) занимает пятое место по заболеваемости и четвертое по смертности среди всех злокачественных новообразований в мире. По данным GLOBOCAN в 2020 году было обнаружено 1 089 103 новых случаев рака желудка, что составляет 5,6% от всех ЗНО, причем 719 523(66%) из них – мужчины, и 369 580(34%) – женщины. Смертность от РЖ составила 768 793 случаев – 7,7% от всех ЗНО, при этом 502 788(65,4%) случаев составили мужчины и 266 005(34,6%) – женщины. У мужчин РЖ занимает 4 место как по заболеваемости(7,1%), так и по смертности(9,1%); у женщин – 7 место по заболеваемости(4%) и 5-ое по смертности(6%)[1]. Как видно из статистики, между мужчинами и женщинами имеются явные различия в эпидемиологии РЖ. В научной литературе данное явление объясняется характерными для мужчин и женщин социальными и биологическими факторами[2]. В частности, нарастает внимание к женским половым гормонам, которые могут обладать канцеропротективным эффектом[3].

Цель исследования. Проанализировать показатели 5-летней общей выживаемости у больных раком желудка разного пола и в различных возрастных группах

Материал исследования. 913 человек, больных раком желудка, получивших лечение в РКОД МЗ РТ г. Казани.

Методы. Пациенты были разделены на следующие возрастные группы: до 50 лет, 50-70 лет и старше 70 лет, далее им проводился подсчет общей выживаемости, и полученные данные сравнивались между собой с дифференцировкой по полу и стадиям. Статистический анализ проводился в программе MedCalc v20.104

Результаты. Мужчин было 547 человек(59,9%), женщин – 366(40,1%). Проведенный анализ показал, что среди женщин 1 стадия заболевания встречалась чаще(18,2%), чем вторая и третья(11,7% и 15,8%). У мужчин наоборот, первая стадия встречалась реже(11,9%), далее идут вторая и третья стадии(13,7% и 20% соответственно). 4 стадия заболевания была самой распространенной у обоих полов (54,3% у женщин и 54,4% у мужчин). Нами не обнаружено достоверной разницы в стадиях заболевания в разных возрастных группах мужчин и женщин. Полученные данные обобщены в таблице 1.

Таблица 1. Распределение больных по полу ,возрасту и стадии заболевания

Параметр	**Мужчины**	**Женщины**
Количество исследуемых	547 (59,9%)	366 (40,1%)
Лица до 50 лет	42(62,7%)	25(37,3%)
50-70 лет	341(69%)	153(31%)
Старше 70 лет	164(46,6%)	188(53,4%)
Стадия		
I	70(60,3%)	46(39,7%)
II	88(56,4%)	68(43,6%)
III	92(68,7%)	42(31,3%)
IV	297(58,6%)	210(41,4%)
5-летняя выживаемость		
До 50 лет		
Стадия	**Мужчины**	**Женщины**
I	75%	100%
II	33%	100%
III	40%	50%
IV	6,7%	18,8%
50-70 лет		
I	80,9%	91,7%
II	51,8%	47,6%
III	33,3%	18,8%
IV	6,7%	4,4%
Старше 70 лет		
I	63,2%	55%
II	13,8%	16,7%
III	7,4%	16,7%
IV	1,1%	6,9%

При изучении общей выживаемости у больных раком желудка разница была достоверной только в группе пациентов до 50 лет и только при ранних стадиях заболевания. Показатели 5-летней выживаемости у лиц до 50 лет представлены на рисунке 1 (Рис. 1). При I стадии пятилетняя выживаемость составила 100% у женщин и 75% у мужчин ($p<0.05$)(Рис. 2). При II-ой стадии пятилетняя выживаемость составила 100% у женщин и 33% у мужчин ($p<0.05$). При III –IV стадиях заболевания и в группах 50-70 лет и старше 70 лет разницы по показателям общей выживаемости не выявлено.

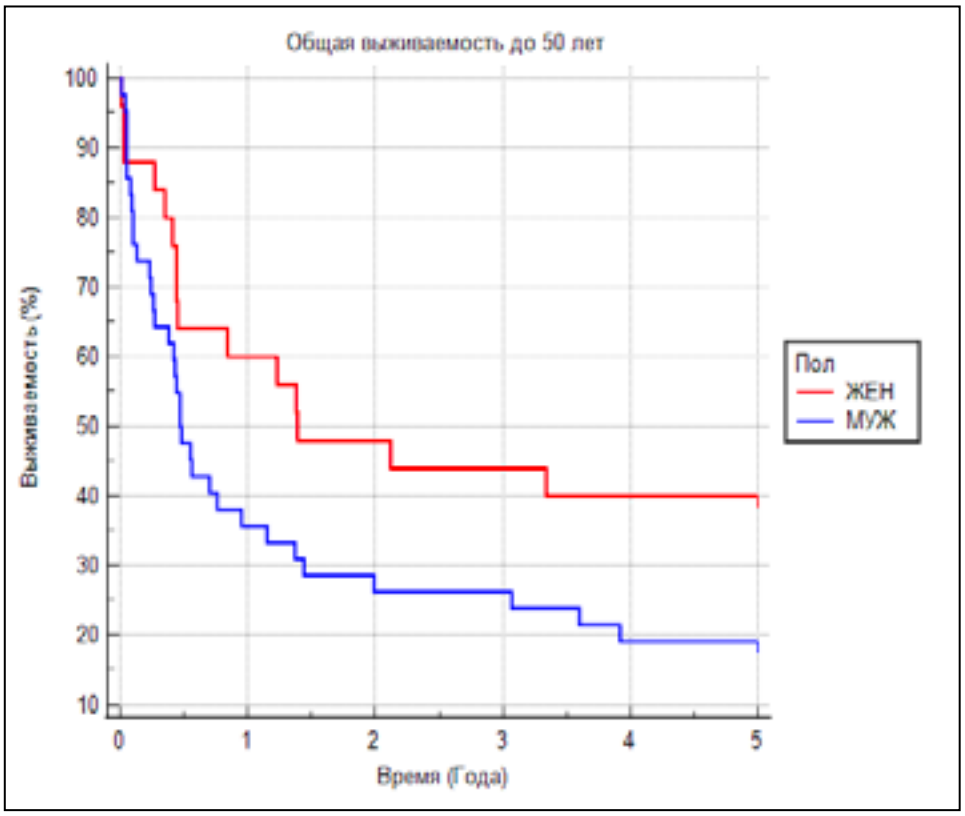


Рисунок 1. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет

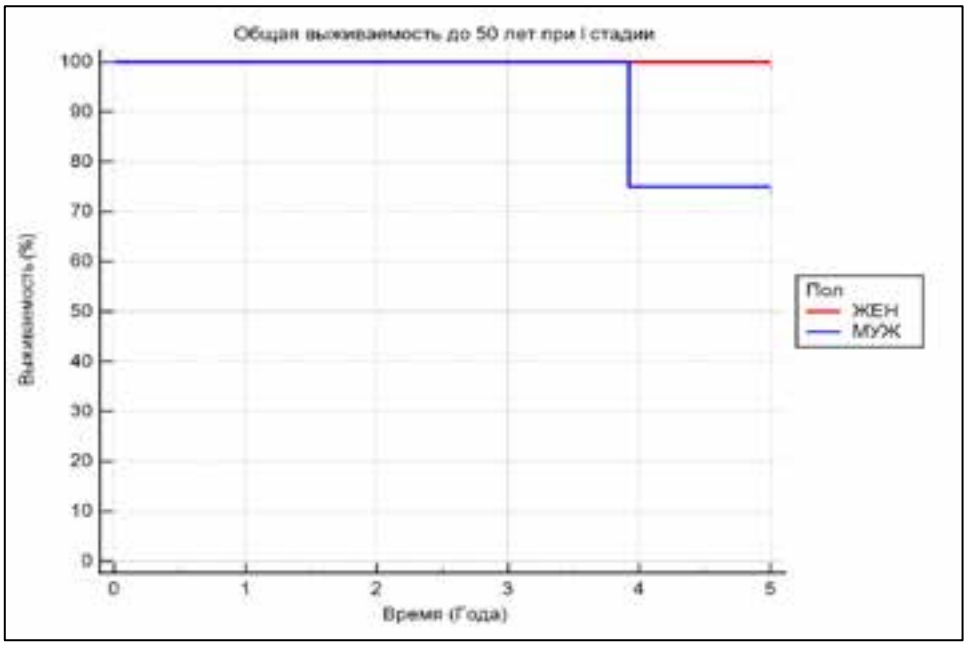


Рисунок 2. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 1-ой стадии РЖ

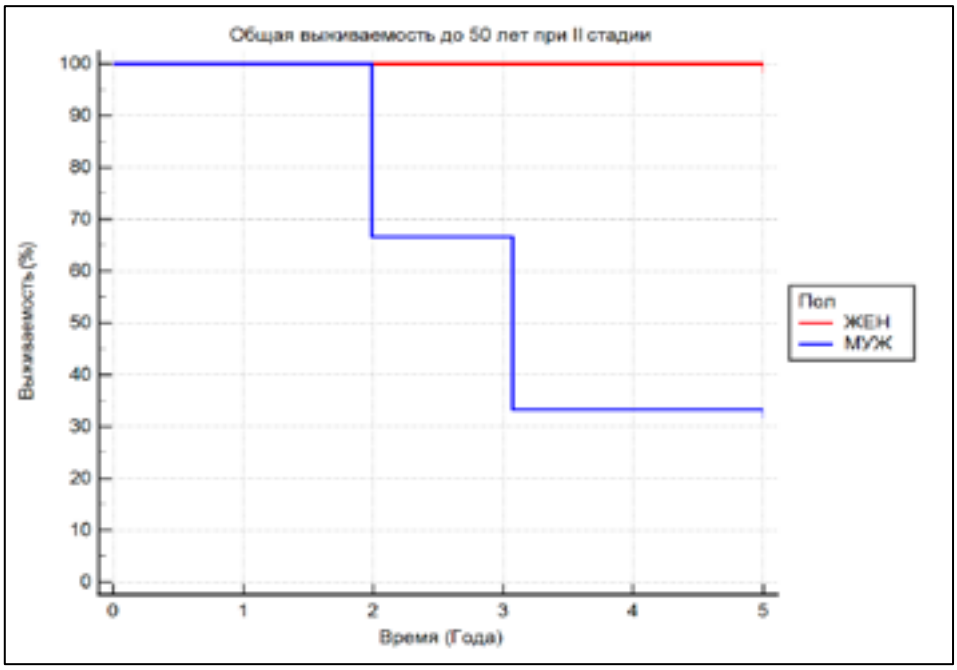


Рисунок 3. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 2-ой стадии РЖ

Обсуждение. Результаты нашего исследования подтверждают различия показателей заболеваемости и выживаемости между мужчинами и женщинами. Женщины заболевают раком желудка реже и имеют более лучшие показатели общей выживаемости. В научных исследования также описываются расхождения между полами по гистологическому строению (диффузная аденокарцинома чаще встречается у женщин, кишечная – у мужчин)[4], локализации (и кардиальный и некардиальный варианты встречаются у мужчин чаще, однако при раке кардии половые различия выражены сильнее)[5], лечению (большая эффективность неоадъювантной химиотерапии у женщин)[6]. Результаты нашего исследования и данные

научной литературы указывают на то, что пол является значимым критерием, который следует учитывать в лечении пациентов с раком желудка, поскольку это позволит сделать медицину более точной и персонализированной.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о лучшей выживаемости женщин, больных раеом желудка в группе до 50 лет, т.е. до момента наступления менопаузы, что свидетельствует о возможном протективном эффекте женских половых гормонов. Полученный результат требует дальнейших исследований на большем клиническом материале с изучением гормонального фона пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Mauvais-Jarvis F., Bairey Merz N., Barnes P.J., et al. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. Lancet. 2020 Aug 22;396(10250):565-582. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31561-0.
3. Rubin JB. The spectrum of sex differences in cancer. Trends Cancer. 2022 Apr;8(4):303-315. doi: 10.1016/j.trecan.2022.01.013.
4. Ilic M, Ilic I. Epidemiology of stomach cancer. World J Gastroenterol. 2022 Mar 28;28(12):1187-1203. doi: 10.3748/wjg.v28.i12.1187.
5. Colquhoun A, Arnold M, Ferlay J, Goodman KJ, Forman D, Soerjomataram I. Global patterns of cardia and non-cardia gastric cancer incidence in 2012. Gut. 2015;64(12):1881–1888. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308915.
6. Luan X, Niu P, Wang W, Zhao L, Zhang X, Zhao D, Chen Y. Sex Disparity in Patients with Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Oncol. 2022 Nov 2;2022:1269435. doi: 10.1155/2022/1269435.

МикроРНК-27b КАК БИОМАРКЕР МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ МЕЛАНОМЫ ХОРИОИДЕИ

Л.А. Кабардикова*, аспирант кафедры офтальмологии
Научный руководитель: д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ А.Ф. Бровкина
ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, ул.Баррикадная, д. 2/1, Москва, 123995, Россия
**e-mail*: leila.kabardikova@yandex.ru

***Ключевые слова*:** меланома хориоидеи; микроРНК-223; микроРНК-27b; микроРНК-155; биомаркер; метастазы
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Источник финансирования: исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №24-25-00340.

Актуальность

Увеальная меланома (УМ) - единственная первичная злокачественная внутриглазная опухоль у взрослых, частота которой составляет 5 - 10 человек на 1 миллион населения [1, 2]. Опухоль в хориоидее локализована в 90-95% (МХ), меланомы цилиарного тела и радужки составляют по ~5% [1, 3, 4]. Тактика лечения зависит от множества факторов, в том числе размеров и локализации опухоли. Главная проблема МХ - гематогенное метастазирование, таргетный орган - печень (93-95%) [5, 6, **7**]. В настоящее время способа эффективного лечения метастатической болезни МХ не существует. После постановки диагноза 5-летний период переживают 75% пациентов, 10-летний период - 65% пациентов, 15-летний период - 59% пациентов [8, 9]. Такие больные подлежат пожизненному диспансерному наблюдению с МРТ/КТ-визуализацией печени каждые 6 мес первые 2 года, далее - 1 раз в год: гематогенные метастазы могут возникать и спустя десятилетия после энуклеации [8]. По данным литературы, приблизительно у 2% пациентов, обратившихся по поводу хориоидальной меланомы, обнаруживают уже имеющиеся метастазы [7, 10]. Выявляют метастазы МХ с помощью МРТ, КТ, ПЭТ-КТ или рентген-визуализации, но минимальный диаметр метастаза в 4-5 мм обнаруживают с помощью МРТ. Проблема “скрытого” микрометастазирования МХ остается актуальной.

Попытки поиска методов выявления метастазов УМ в ранние сроки по оценке количества циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови

предпринимались, начиная с XX века и продолжаются в настоящее время [11, 12], однако важность их для практического применения пока не подтверждена. С 2012 года появляются публикации о роли уровня экспрессии микроРНК в плазме крови [13, 14, 15]. Были исследованы уровни экспрессии микроРНК-16, 20a, 106a, 125b, 126, 146a, 155, 199a и 221 в плазме крови больных метастатической МХ и обнаружены разнородные изменения их экспрессии в ответ на химиотерапевтическое лечение: повышение или понижение уровня экспрессии.

Материалы и методы. Обследованы с помощью офтальмологических методов исследования (визометрия, статическая компьютерная периметрия, тонометрия, биомикроскопия и биомикроофтальмоскопия контактная и бесконтактная), а также цифровой фоторегистрации глазного дна и ультразвукового сканирования глаза и МРТ/КТ таргетных органов 6 больных, страдающих метастатической МХ после энуклеации. Контролем являлись показатели уровня экспрессии микроРНК-27b в группе волонтеров, близких по возрастной группе и не имеющих ни опухолевых, ни хронических заболеваний. Анализ уровня биомаркера микроРНК-27b проводили в плазме крови с использованием реакции ПЦР в режиме реального реального времени. Результаты выражали в процентном значении, где уровень контроля принимали за 100%. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 27.0.1 (США). Критический уровень значимости принимали равным 5%, нулевую гипотезу отвергали при $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Возраст обследованных больных в среднем составил 65,7±7,87 лет. Опухоль располагалась в хориоидее, размеры её по высоте 3,79-14,07 мм. Во всех случаях диагноз МХ подтвержден морфологически, локализация опухоли в преэкваториальной зоне. Патоморфологическое исследование свидетельствовало о прорастании опухоли по эмиссариям глаза с инвазией вортикозной вены (2 больных), распространение в зрительный нерв (1 больная), формирование эписклерального узла (2 больных). Таким образом, у всех 6 больных меланомы могут быть отнесены к разряду больших. Выход опухоли за пределы хориоидеи рассматривают как фактор риска наличия метастазов, это же можно отнести и к преэкваториальной локализации опухоли [16]. А между тем, результаты общего обследования (МРТ/КТ печени и легких), профиль экспрессии микроРНК-27b в плазме крови больных свидетельствовал об отсутствии дистантных

метастазов, в связи с чем им и была проведена энуклеация. У всех больных уровень экспрессии биомаркера микроРНК-27b в плазме крови до операции превышал показатели контроля более чем в 4 раза (таб.1).

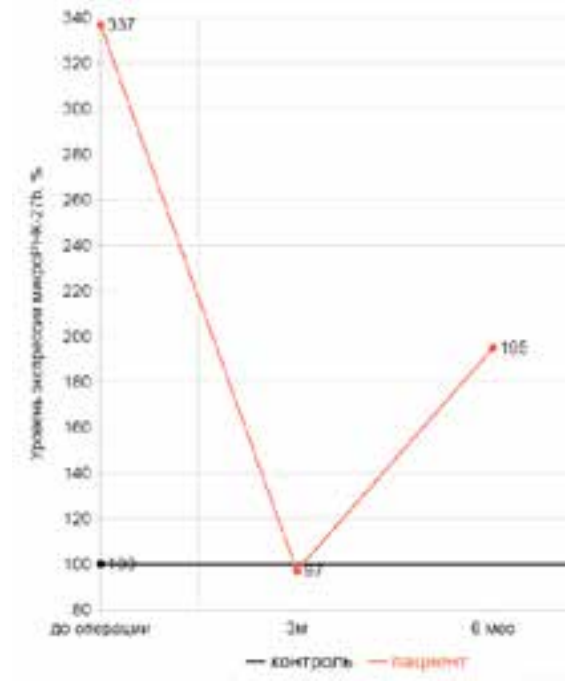
Таблица 1

Характер изменения экспрессии микроРНК-27b в плазме крови больных МХ, перенесших энуклеацию, в послеоперационном периоде

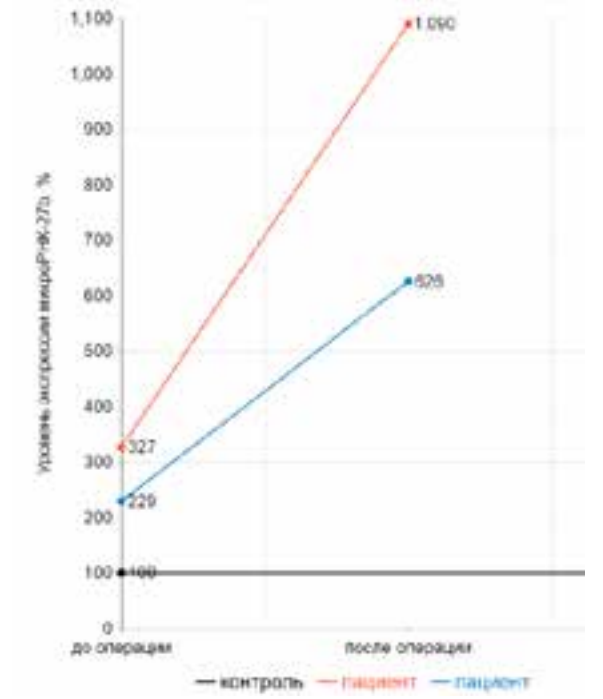
n	Уровень экспрессии микроРНК-27b до энуклеации, %	Уровень экспрессии микроРНК-27b после энуклеации, %	p
6	456,3±216,4	964,8±193,1	<0,001

* - различия показателей статистически значимы (p<0,05)

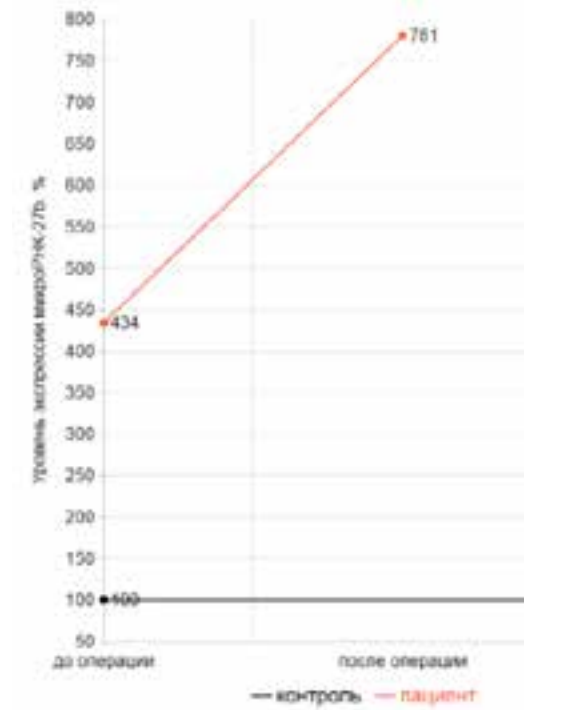
В процессе диспансерного наблюдения за больными проводили МРТ/КТ исследование внутренних органов, исследование уровня экспрессии микроРНК-27b плазмы крови в динамике. Спустя 3 месяца исследование проведено у одной 72-летней пациентки, и оказалось, что экспрессия микроРНК-27b снизилась до уровня контроля (p<0,05), но по сравнению со средним показателем экспрессии других больных МХ без метастатической болезни степень экспрессии была больше практически на 50%. Исследование повторили ещё через 3 месяца (через 6 месяцев после энуклеации) и обнаружили увеличение экспрессии микроРНК-27b на 98% (рис. 1, а). К этому времени проведена повторная МРТ печени, по результатам которой выявлен одиночный метастаз размерами 6х11 мм. Таким образом, показатели уровня микроРНК-27b плазмы крови свидетельствовали об агрессивности опухолевого процесса несмотря на энуклеацию.



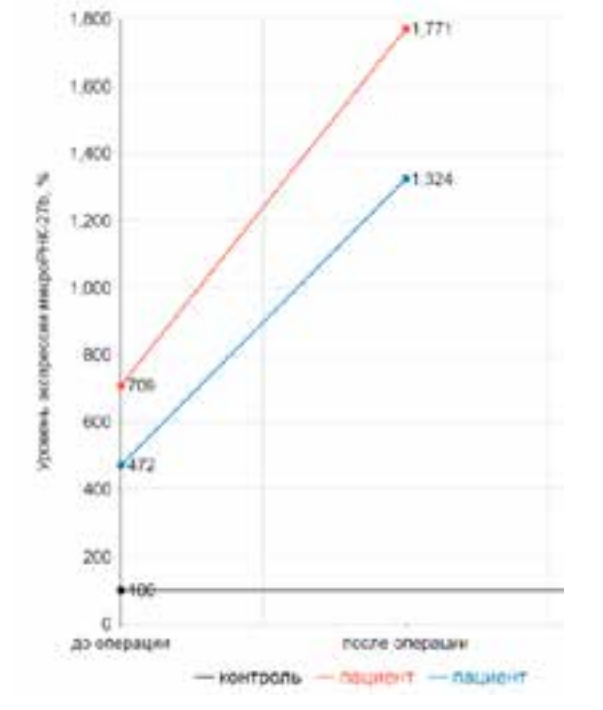
а



б



в



г

Рисунок 1. Характер изменения профиля экспрессии микроРНК-27b в плазме крови: а – у пациентки 72 лет на фоне диагностированного метастаза; б – у больных на фоне имеющихся гематогенных метастазов; в – у пациента 56 лет за 8 месяцев до выявления гематогенного метастазирования МХ; г – у больных метастатической МХ на фоне получаемой химиотерапии, сроки лечения 7 и 14 месяцев (различия показателей статистически значимы ($p<0,05$))

В трёх случаях при сроках наблюдения 32, 36, 43 месяца после энуклеации профили уровня экспрессии микроРНК-27b также оказались повышенными по сравнению с дооперационными в 1,8, 2,7 и 3,3 раза. При этом в двух наблюдениях уже были гематогенные метастазы (рис.1, б). У одного больного 56-ти лет через 44 месяца после энуклеации уровень экспрессии микроРНК-27b плазмы крови по сравнению с дооперационным увеличился в 1,8 раза при отсутствии признаков гематогенного метастазирования по результатам МРТ (рис.1, в). При плановом обследовании спустя 8 месяцев после анализа микроРНК-27b выявлены множественные гематогенные метастазы в печень. Опухолевый метастатический процесс был настолько агрессивен, что смерть наступила спустя 1 месяц после обследования. Таким образом, приведенные примеры подтверждают рост уровня экспрессии микроРНК-27b в периферической крови больных МХ при активизации опухолевого процесса после проведенной операции (энуклеации). Об этом же свидетельствует и сравнение полученных данных с группой больных (77 человек), у которых при тех же сроках наблюдения метастатического процесса не выявлено, а профиль экспрессии микроРНК-27b приближен или ниже уровня контроля (рис.2).

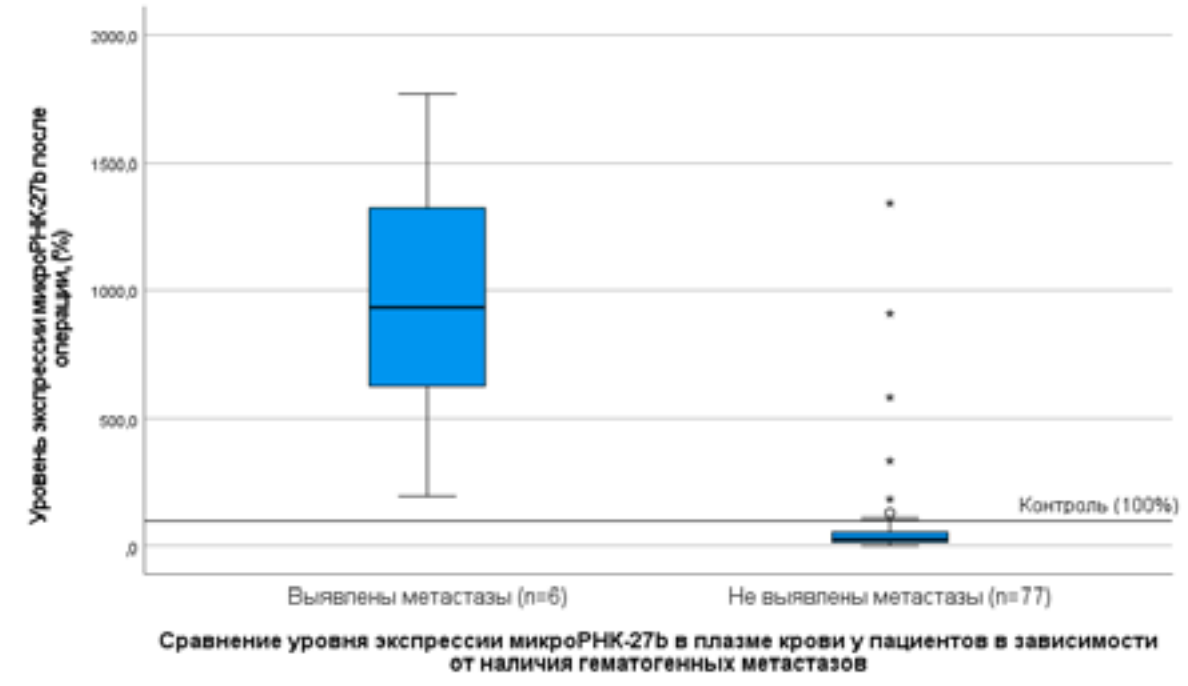


Рисунок 2. Уровень экспрессии микроРНК-27b в плазме крови больных МХ без метастазов и при их наличии (медиана наблюдения 35,5 месяцев и 39 месяцев)

Полученные данные подтверждены анализом ROC-кривых (таб.2, рис.3).

Таблица 2

ROC-анализ микроРНК: группа больных МХ без выявленных метастазов (77) и с выявленными метастазами (6)

микроРНК	AUC	Чувствительность(%)	Специфичность (%)	p
27b	0,965	100	87	<0,05

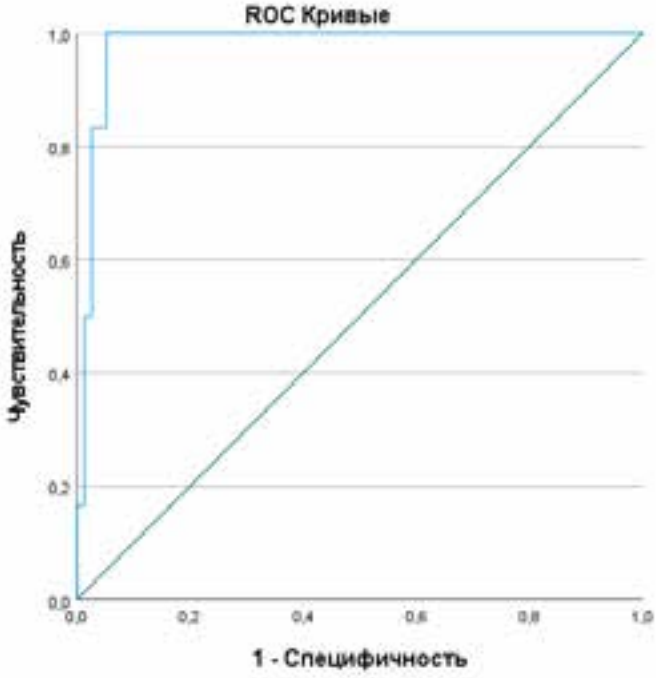


Рисунок 3. ROC-кривые диагностической значимости микроРНК в выявлении метастазирования МХ. Классификатор на основе бинарной логистической регрессии выбранных микроРНК. На ROC-кривых представлены результаты разделения 2-х групп: больные МХ с выявленными отдаленными метастазами (6 человек) и без выявленных метастазов (77 человек).

В 2-х наблюдениях исследование проведено на фоне получаемой химиотерапии по поводу множественных гематогенных метастазов. Оказалось, что при сроках наблюдения 35 и 36 месяцев несмотря на проводимую химиотерапию уровень экспрессии микроРНК-27b оставался высоким: по сравнению с дооперационными показателями увеличен в 2,5 и в 2,8 раза (рис.1, г). Приведенные выше наблюдения подтверждают отсутствие эффективной химиотерапии как первичной, так и метастатической МХ [17].

Заключение

Повышение уровня микроРНК-27b в плазме крови больного МХ может быть использован для раннего, доклинического выявления метастатической болезни после удаления глаза, пораженного большой меланомой хориоидеи. Отсутствие положительного эффекта химиотерапии с помощью анализа профиля микроРНК-27b в плазме крови больных ещё раз подтверждает необходимость поиска новых методов лечения на молекулярном уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А. Ф. (ред.). Офтальмоонкология: Руководство для врачей. – Медицина, 2002
2. Singh A. D., Turell M. E., Topham A. K. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival //Ophthalmology. – 2011. – Т. 118. – №. 9. – С. 1881-1885.
3. Damato B. Treatment of primary intraocular melanoma. Expert Rev Anticancer Ther. 2006;6:493–506
4. Shields C.L., Furuta M., Thangappan A., Nagori S., Mashayekhi A., Lally D.R., Kelly C.C., Rudich D.S., Nagori A.V., Wakade O.A., et al. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. Arch. Ophthalmol. 2009;127:989–998. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.208
5. COMS-15. Assessment of metastatic disease status at death in 435 patients with large choroidal melanoma in the Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS): COMS report no. 15. Arch Ophthalmol. 2001;119:670–6
6. Rantala E.S., Hernberg M., Kivela T.T. Overall survival after treatment for metastatic uveal melanoma: A systematic review and meta-analysis. Melanoma Res. 2019;29:561–568. doi: 10.1097/CMR.0000000000000575
7. Garg G. et al. Patients presenting with metastases: stage IV uveal melanoma, an international study //British Journal of Ophthalmology. – 2022. – Т. 106. – №. 4. – С. 510-517
8. Kujala E., Makitie T., Kivela¨ T. Very long-term prognosis of patients with malignant uveal melanoma //Investigative ophthalmology & visual science. – 2003. – Т. 44. – №. 11. – С. 4651-4659
9. Stålhammar G., Herrspiegel C. Long-term relative survival in uveal melanoma: a systematic review and meta-analysis //Communications Medicine. – 2022. – Т. 2. – №. 1. – С. 18

10. AJCC Ophthalmic Oncology Task Force International Validation of the American Joint Committee on Cancer's 7th Edition Classification of Uveal Melanoma. JAMA Ophthalmol. 2015;133:376–383. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.5395
11. Suesskind D. et al. Circulating melanoma cells in peripheral blood of patients with uveal melanoma before and after different therapies and association with prognostic parameters: a pilot study //Acta ophthalmologica. – 2011. – Т. 89. – №. 1. – С. 17-24
12. Beasley A. et al. Clinical application of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in uveal melanoma //JCO precision oncology. – 2018. – Т. 2. – С. 1-12.
13. Triozzi P. L. et al. The association of blood angioregulatory microRNA levels with circulating endothelial cells and angiogenic proteins in patients receiving dacarbazine and interferon //Journal of translational medicine. – 2012. – Т. 10. – №. 1. – С. 1-7
14. Stark M. S. et al. A panel of circulating MicroRNAs detects uveal melanoma with high precision //Translational Vision Science & Technology. – 2019. – Т. 8. – №. 6. – С. 12-12.
15. Wróblewska J. P. et al. MiRNAs from serum-derived extracellular vesicles as biomarkers for uveal melanoma progression //Frontiers in cell and developmental biology. – 2022. – Т. 10. – С. 1008901.
16. Shields C. L. et al. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter iyes //Archives of Ophthalmology. – 2009. – Т. 127. – №. 8. – С. 989-998. Jager M. J. et al. Uveal melanoma //Nature reviews Disease primers. – 2020. – Т. 6. – №. 1. – С. 24
17. Jager M. J. et al. Uveal melanoma //Nature reviews Disease primers. – 2020. – Т. 6. – №. 1. – С. 24.

АЛЛОИМПЛАНТАЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТЕНОЗА ГОРТАНИ И ТРАХЕИ

Е.А. Кирасирова, С.И. Тютина, Р.Ф. Мамедов, Н.В. Лафуткина

ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» Департамента здравоохранения города Москвы (директор – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков), Москва, 117152, Россия

COMBINED TREATMENT OF CHRONIC STENOSIS OF THE LARYNX AND TRACHEA USING IMPLANTATION MATERIALS

E.A. Kirasirova, S.I. Tyutina, R.F. Mamedov, N.V. Lafutkina

State Budgetary Institution of healthcare “Research Clinical Institute of Otorhinolaryngology named after L.I. Sverzhevsky” Department of healthcare of the city of Moscow, Moscow, 117152, Russia.

Abstract: The article presents an analysis of the effectiveness of surgical treatment of patients with cicatricial stenosis of the larynx and trachea using implantation materials in the form of costal allocartilage and demineralized bone tissue. The study included 70 patients with cicatricial stenosis of the larynx and trachea with an age range of 21-63 years and disease duration of 1-10 years. After clinical, endoscopic and radiological examination on an outpatient basis, patients underwent reconstructive plastic surgical treatment in the following volume: laryngotracheoplasty with implantation of allomaterials in the area of the anterolateral parts of the larynx and trachea, followed by dynamic outpatient observation in the postoperative period. The study showed that a differentiated approach to surgical treatment using alloimplantation materials made it possible to rehabilitate 63 patients (90%) out of 70. We associate the unsatisfactory results of the study with the presence of concomitant pathology, a history of chemoradiation treatment, and reduced patient compliance. The use of costal allocartilage and demineralized bone tissue has shown its effectiveness in cases of defects in the cartilaginous supporting frame of the larynx and trachea.

Key words: cicatricial stenosis of the larynx and trachea, costal allocartilage, demineralized bone tissue, alloimplantation material.

Резюме. В статье представлен анализ эффективности хирургического лечения пациентов с хроническим рубцовым стенозом гортани и трахеи (ХРСГТ) с использованием имплантационных материалов в виде реберного аллохряща и деминерализованной костной ткани (ДКТ). В исследование включено 70 пациентов с ХРСГТ в возрасте 21-63 лет и длительностью заболевания 1-10 лет. После клинического, эндоскопического и лучевого

обследования на амбулаторном этапе, пациентам проведено реконструктивно-пластическое оперативное лечение в объеме: ларинготрахеопластика с имплантацией алломатериалов в область переднебоковых отделов гортани и трахеи с последующим динамическим амбулаторным наблюдением в послеоперационный период. Исследование показало, что дифференцированный подход к хирургическому лечению с использованием аллоимплантационных материалов позволил реабилитировать 63 пациента (90%) из 70. Неудовлетворительные результаты исследования мы связываем с наличием сопутствующей патологии, химиолучевого лечения в анамнезе и сниженной комплаентностью пациента. Использование реберного аллохряща и ДКТ показало свою эффективность при дефекте хрящевого опорного каркаса гортани и трахеи.

Ключевые слова: рубцовый стеноз гортани и трахеи, реберный аллохрящ, деминерализованная костная ткань, аллоимплантационный материал.

Актуальность исследования: Хронический рубцовый стеноз гортани и трахеи (РСГТ) – тяжелое инвалидизирующее заболевание, ведущее к длительному хроническому канюленосительству, отсутствию голоса, социальной и трудовой дезадаптации пациента. Лечение ХРСГТ - длительное, многоэтапное и продолжает оставаться актуальной проблемой, несмотря на развитие современных хирургических технологий. [1, 2] Наиболее частыми причинами ХРСГТ являются продленная искусственная вентиляция легких, трахеостомия и травмирование трахеи дистальным отделом трахеостомической трубки и раздувной манжетой, тяжелая сочетанная травма шеи. [6]

Основной морфологический субстрат ХРСГТ представлен грубоволокнистой соединительной тканью, ведущей к сужению дыхательных путей и несостоятельности хрящей гортани и трахеи с развитием дыхательной недостаточности вследствие спадения просвета. [3, 4, 10]

При хирургическом лечении ХРСГТ необходимо решить следующие основные задачи:

1) иссечение рубцовой ткани с восстановлением просвета гортани и трахеи;
2) воссоздание ригидного опорного скелета с помощью имплантационных материалов с целью выполнения ими каркасной функции.

Использование аутоматериалов сопряжено с дополнительным оперативным вмешательством для забора пластического материала и возможным развитием осложнений в виде гематомы, пневмоторакса и воспалительных процессов донорской области. Количество аутоматериала зачастую ограничено и не всегда достаточно для оперативного

лечения. При наличии обширных рубцовых изменений окружающих тканей и вялотекущего септического процесса у пациента забор аутоматериала и использование микрохирургии при реконструктивно-пластическом оперативном лечении зачастую не представляется возможным. Кожно-мышечная пластика несостоятельна вследствие нарушения каркасной функции. [5, 7, 11, 16]

Известны случаи использования искусственных имплантационных материалов в виде сеток из марлекса, никелид титана. Среди преимуществ – неограниченное количество импланта, отсутствие необходимости забора материала. Но вследствие монолитной структуры искусственных имплантационных материалов отсутствует прорастание и васкуляризация их тканями реципиента, что сопряжено с миграцией импланта и его инкапсулированием, образованием пролежней, ростом грануляционной ткани и последующим его отторжением. [8, 9, 12, 13, 14, 15]

Исходя из вышеизложенного, актуальным вопросом ларинготрахеальной хирургии по-прежнему является выбор оптимального имплантационного материала с целью восстановления недостающих элементов гортанно-трахеального комплекса.

Цель исследования: повышение эффективности реконструктивно-пластического оперативного лечения пациентов с ХРСГТ с использованием аллоимплантационных материалов в виде реберного аллохряща и ДКТ.

Материалы и методы. В отделе реконструктивной хирургии полых органов шеи ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ проанализированы данные 70 пациентов с протяженной облитерацией просвета гортани и трахеи соединительной тканью более 1.5 см в совокупности с несостоятельностью переднебоковых отделов дыхательных путей, проходивших обследование и лечение за период с 2020 по 2023 гг. Все пациенты являлись хроническими канюленосителями с длительностью ношения трахеостомической трубки более 6 месяцев. Возраст пациентов - от 21 до 63 лет. Длительность заболевания - от 1 года до 10 лет. 43 пациента (61%) являлись первичными, без оперативного лечения на гортани и трахее ранее. Просвет гортани и трахеи в зоне рубцового сужения составлял 0.1 [0.1; 0.2] см, что свидетельствовало о формировании гортанно-трахеальной облитерации просвета. 27 пациентов (39%) были с предшествующим реконструктивно-пластическим оперативным лечением на гортани и трахее. У повторных пациентов ранее уже был сформирован просвет гортани и трахеи и до оперативного лечения составлял 0.9 [0.1; 1.0] см, но переднебоковые отделы были несостоятельны, в то время как у первичных пациентов наблюдалась гортанно-трахеальная атрезия в сочетании с лизисом хрящевой ткани и, как следствие, флотированием переднебоковых отделов дыхательных путей.

Диагностический алгоритм включал стандартный оториноларингологический осмотр, мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) гортани и трахеи с трехмерной реконструкцией воздушного столба и хрящевого опорного скелета, эндоскопический осмотр гортани и трахеи телеларингофарингоскопом фирмы «Karl Storz» с углом зрения 90˚ и ретроградно через инверзию жестким эндоскопом «Karl Storz» с углом зрения 70˚ с фото- и видеодокументированием.

Всем пациентам проведено реконструктивно-пластическое оперативное лечение с использованием алломатериалов в виде реберного аллохряща и ДКТ. Условием для адекватного приживления алломатериалов являются: сохранное питающее мышечно-фасциальное ложе и фиксация аллотрансплантата к подлежащим опорным структурам дыхательных путей.

Аллогенный хрящ (рис.1) – это биологический материал, используемый в регенеративной хирургии и терапии, который включен в общую классификацию биологической продукции и разрешен к широкому клиническому применению. Свойства реберного аллохряща, способствующие его использованию в регенеративной хирургии, следующие: низкая антигенность, отсутствие реакции отторжения и миграции материала, селективный рост тканей реципиента и стимуляция регенерации кровеносных и лимфатических сосудов, а также легкая моделируемость.

Рис. 1. Реберный аллохрящ, смоделированный по форме и перфорированный по всему периметру сквозными отверстиями

Трансплантат из ДКТ (рис.2) - это биологический материал, используемый в области регенеративной хирургии и терапии. Костная плотность ткани поддерживает необходимую форму трансплантата, а технология обработки костной ткани с обязательной предварительной деминерализацией и лиофилизацией способствует приданию необходимой податливости трансплантату с целью достижения эластичности и гибкости при нахождении в тканях реципиента. Аллотрансплантат из ДКТ обладает такими

свойствами, как: химическая и биологическая инертность, отсутствие иммунологической и тканевой реакции, стимуляция регенераторных процессов с неоваскуляризацией, поддержание предварительно смоделированной формы.

Рис. 2. Деминерализованная костная ткань, замоченная в физиологическом растворе 0,9% NaCl

При первичной ларинготрахеопластике первым этапом иссекалась рубцовая ткань в просвете гортани и трахеи с последующей мобилизацией сохранных фрагментов хряща и формированием просвета дыхательных путей. Трансплантат предварительно интраоперационно моделировали по форме с перфорацией его по всему периметру сквозными отверстиями 1 мм. Вторым этапом формировали мышечно-фасциальные карманы паратрахеально с имплантацией в эту область аллоимплантационного материала, прошиванием его по всему периметру с целью фиксации к окружающим тканям и дальнейшим послойным укрытием мышцами, фасцией, подкожно-жировой клетчаткой и кожей. В сформированный просвет устанавливался тампон-обтуратор, закрепленный к фланцу изогнутой трахеостомической трубки с манжетой, который удалялся на 2-3 сутки после операции. В дальнейшем пациенты проходили этапное протезирование гортанно-трахеального комплекса на Т-образной силиконовой трахеостомической трубке с закрытым выводным отверстием, что позволяло пациенту говорить и способствовало, в том числе, его социальной и трудовой адаптации уже после первого этапа оперативного лечения.

При этапной ларинготрахеопластике у повторных пациентов оперативное лечение заключалось в ревизии сохранных опорных структур переднебоковых отделов гортани и трахеи с имплантацией в недостающую область аллоимплантационного материала. Послеоперационный период протекал аналогично первичной ларинготрахеопластике.

Далее пациент находился на амбулаторном наблюдении, где визуально и под контролем эндоскопической техники оценивали состояние просвета гортани и трахеи и состоятельность переднебоковых стенок с имплантированным алломатериалом. Нежелательная реакция в виде признаков местной воспалительной реакции фиксировалась в амбулаторной карте с последующим назначением консервативной терапии.

При благоприятном течении этапного протезирования гортани и трахеи и отсутствии осложнений в виде местных признаков воспалительной реакции, разрастания грануляционной ткани, несостоятельности переднебоковых отделов гортанно-трахеального комплекса пациент проходил контрольный период без Т-образной силиконовой трахеостомической трубки с герметично заклеенным трахеостомическим отверстием. При завершении контрольного периода проводился контрольный осмотр гортани и трахеи с оценкой состояния просвета и ригидности стенок гортани и трахеи. В дальнейшем пациенту планировали заключительный этап оперативного лечения в виде полного пластического закрытия трахеостомического дефекта.

Результаты собственных исследований:

При оценке степени выраженности воспалительного процесса после оперативного лечения выявлено сопоставимо равное уменьшение выраженности воспалительной реакции к 21 суткам как при имплантации реберного аллохряща, так и ДКТ с практически полным исчезновением воспалительных явлений к 6 месяцу амбулаторного наблюдения. Гнойного отделяемого, признаков отторжения имплантационного материала не наблюдали. У 7 первичных (10%) и 3 повторных (4%) пациентов сохранялся болевой синдром до 2 месяцев, что связывали с ненадлежащим уходом за трахеостомой.

Через 6 месяцев после операции пациентам проводили МСКТ гортани и трахеи с оценкой состояния аллоимплантационного материала в переднебоковых отделах гортани и трахеи (Рис. 3,4). У 39 первичных пациентов (56%) по данным МСКТ гортани и трахеи структуры аллоимплантов были сохранены, из них: 20 пациентов (29%) – реберный аллохрящевой имплант, 19 пациентов (27%) – комбинация из реберного аллохряща и ДКТ. У 24 повторных пациентов (34%) также наблюдались сохранные аллоимпланты из ДКТ в области боковых отделов гортани и трахеи. У всех пациентов наблюдали стойкий широкий просвет гортани и трахеи, способствующий адекватной вентиляции верхних дыхательных путей. В дальнейшем пациентам запланирован и частично проведен заключительный этап оперативного лечения в виде пластического закрытия трахеостомического дефекта.

Рис. 3. МСКТ гортани и трахеи с трехмерной реконструкцией. Сохранные структуры реберного аллохрящевого трансплантата паратрахеально.

Рис. 4. МСКТ гортани и трахеи с трехмерной реконструкцией. Сохранные структуры трансплантата из ДКТ паратрахеально.

У 4 первичных пациентов (6%) и 3 повторных пациентов (4%) отмечали избыточную податливость стенок гортани и трахеи. Результат оценивали, как неудовлетворительный. Мы связываем это с наличием сопутствующей патологии в виде сахарного диабета 1 типа в стадии декомпенсации (2 пациента, 3%), химиолучевого лечения в анамнезе (1 пациент, 1%)) и отсутствием регулярных амбулаторных осмотров в совокупности с ненадлежащим уходом за трахеостомой (4 пациента, 6%)). Пациенты продолжают проходить этапное протезирование гортани и трахеи на Т-образной силиконовой трахеостомической трубке с дальнейшим планированием этапного реконструктивно-пластического лечения.

Таким образом, у 63 пациентов (90%) с ХРСГТ достигнуты удовлетворительные результаты реконструктивно-пластического оперативного лечения аллоимплантационных материалов: 39 пациентов (56%) - при первичной ларинготрахеопластике и 24 (34%) - при этапной ларинготрахеопластике.

Выводы. Применение аллоимплантационных материалов в реконструктивно-пластической хирургии при сочетанном протяженном ХРСГТ показано при: облитерации просвета гортани и трахеи соединительной тканью с развитием атрезии протяженностью более 1,5 см, лизисе хрящевого остова гортани и трахеи с развитием несостоятельности переднебоковых отделов гортани и трахеи протяженностью более 2 см, наличии трахеального дефекта протяженностью более 2 см. Использование аллогенного хряща и ДКТ при ларинготрахеопластике эффективно как по отдельности, так и в комбинации у больных сочетанным ХРСГТ протяженностью более 1,5 см, что позволяет одномоментно создать ригидный опорный каркас дыхательных путей и осуществить частичную социальную и трудовую реабилитацию пациентов.

Список сокращений

ХРСГТ – хронический рубцовый стеноз гортани и трахеи

ДКТ – деминерализованная костная ткань

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

ЛИТЕРАТУРА

1. Есаков Ю.С., Дубова Е.А., Жестков К.Г., Щеголев А.И. Морфологические изменения при постинтубационном стенозе трахеи. // Хирургия. Журнал им. Н.И.Пирогова, 2010; 2: с. 60-63

2. Карпищенко С.А., Рябова М.А., Долгов О.И. и др. О медицинской реабилитации канюленосителей // Материалы III Петербургского форума оториноларингологов России / Рос. О-во оториноларингологов; гл.ред. Ю.К.Янов – СПб.: ООО «Полифорум», 2014г- с.320-321

3. Кирасирова Е.А. Реабилитация больных с травматическим повреждением гортани и трахеи различной этиологии. // Дисс д.м.н. г.Москва 2004г

4. Кокорина В. Э. Формирование посттравматической рубцовой деформации гортани и трахеи // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2007. - №4(56).-С. 40-51

5. Кротов Ю.А., Чернышев А.К., Соколова О.Г. Хирургическая коррекция постинтубационных стенозов гортани и начального отдела трахеи у детей (обзор литературы) // Российская оториноларингология. 2005. № 6 (19). С. 94—98

6. Крюков А.И., Гуров А.В., Кирасирова Е.А., Кулабухов Е.В. Современные методы профилактики и терапии осложнений при реконструктивной хирургии у пациентов со стенозом гортани и трахеи. Вестник оториноларингологии. 2019;84(6):48-53. //doi.org/10.17116/otorino20198406148

7. Паршин В.Д., Порханов В.А., Печетов А.А., Русаков М.А., Соколович Е.Г. Клинические рекомендации по хирургическому лечению больных приобретенным рубцовым стенозом трахеи. // СПб.: Ассоциация торакальных хирургов. 2015.

8. Решульский С.С., Клочихин А.Л., Виноградов В.В. Пластика гортани и трахеи при стенозах // Сборник материалов Национального конгресса «Пластическая хирургия». М.: ИД «Бионика», 2011. С. 95.

9. Татур А.А., Леонович С.И., Чайковский В.В., Гончаров А.А. и др. Местная пластика дефектов трахеи при ее этапной реконструкции у больных с рубцовым стенозом // Военная медицина. - 2008. - №4.-С.40- 44.

10. Тришкин Д.В. Постинтубационная болезнь трахеи (патогенез, диагностика, эндоскопическое и хирургическое лечение, профилактика).// Автореф. дис. д-ра мед. наук. г. Пермь 2007

11. Ягудин Р.К., Ягудин К.Ф. Аллопластика ларинготрахеостомы полипропиленовой сеткой «Эсфил» // Вестник оториноларингологии. 2007. № 1. С. 32—36.

12. Ягудин Р.К., Ягудин К.Ф. Опыт применения двухэтапной ларинготрахеопластики в лечении подскладковых и подскладковотрахеальных рубцовых стенозов у взрослых. Вестник оториноларингологии. 2015;80(2):53-59. //doi.org/10.17116/otorino201580253-59

13. Gallagher TQ, Hartnick CJ. Laryngotracheal reconstruction. //AdvOtorhinolaryngol. 2012; 73:31-8. //doi.org/10.1159/000334296

14. Huang L, Wang L, He J, Zhao J, Zhong D, Yang G, Guo T, Yan X, Zhang L, Li D, Cao T, Li X. Tracheal suspension by using 3-dimensional printed personalized scaffold in a patient with tracheomalacia. //J Thorac Dis. 2016 Nov; 8(11):3323-3328. //doi.org/10.21037/jtd.2016.10.53

15. Kim DY, Pyun J, Choi JW, Kim JH, Lee JS, Shin HA, Kim HJ, Lee HN, Min BH, Cha HE, Kim CH. Tissue-engineered allograft tracheal cartilage using fibrin/hyaluronan composite gel and its in vivo implantation.// Laryngoscope. 2010 Jan;120(1):30-8. //doi.org/10.1002/lary.20652.

16. Morrison R.J., Nasser H.B., Zopf D.A., Flanagan C.L., Wheeler M., Green G.E., et al., Biomechanical properties and effect on tracheobronchial growth of 3-D printed bioresorbable airway splints for treating tracheobronchomalacia, //Tissue Eng. 1 (2014) S-24 https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.5000

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ГОНИТОВ МЕТОДОМ ДВУХЭТАПНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ

Н.А. Кокорин, Л.И. Малюченко, В.В. Яковлев

ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары), Россия

Аннотация. Одной из редких патологий коленного сустава является его воспаление, вызванное неспецифической микрофлорой (далее – гонит). В литературе часто указывается на сложность диагностики и лечения этого состояния. Возникающие необратимые изменения в суставе требуют радикального вмешательства. *Цель исследования* – оценить эффективность варианта лечения гонита в виде двухэтапного эндопротезирования с установкой артикулирующего спейсера на первом этапе. *Материалы и методы.* В статье изложен опыт лечения гонита у 31 пациента методом двухэтапного эндопротезирования. Всем пациентам выполнена установка артикулирующих спейсеров с антибиотиками как с использованием компонентов протеза, так и изготовленных ручным способом. Второй этап выполнен через 121±21,1 дня. Оценка результатов проводилась с помощью функциональной шкалы KSS. *Результаты.* Отмечено улучшение функционального состояния пораженного коленного сустава после выполнения второго этапа лечения (с 46,5±1,83 до 77±13,91 балла по шкале KSS). Вторым этапом выполнена установка тотального эндопротеза цементной фиксации. На отдаленном сроке наблюдения 35,2±6,1 мес. в 86,7% случаев отмечена эрадикация инфекционного процесса; средний функциональный результат по шкале KSS 77±13,91 балла. *Выводы.* Таким образом, использование двухэтапного эндопротезирования при лечении неспецифического гонита позволяет достичь удовлетворительных результатов.

Ключевые слова: неспецифический гонит; первичный гонит; острый гонит; артикулируюший спейсер; двухэтапное эндопротезирование

FUNCTIONAL RESULTS OF TREATMENT OF PRIMARY GONITIS BY TWO-STAGE ENDOPROSTHETICS METHOD

N.A. Kokorin, L.I. Malyuchenko, V.V. Yakovlev

Federal State Budgetary Institution «Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Cheboksary), Russia

Summary. One of the rare pathologies of the knee joint is its inflammation caused by nonspecific microflora (hereinafter referred to as «gonitis»). The literature often points out the difficulty of diagnosing and treating this condition. Irreversible changes in the joint require radical intervention. *The purpose of the study* is to evaluate the effectiveness of the treatment option for gonitis in the form of two-stage arthroplasty with the installation of an articulating spacer at the first stage. *Methods.* The article describes the experience of treating gonitis in 31 patients using two-stage endoprosthetics. All patients underwent installation of articulating spacers of various configurations with antibiotics, both using prosthetic components and those made manually. The second stage was completed after 121±21.1 days. The results were assessed using the KSS functional scale. *Results.* There was an improvement in the functional state of the affected knee joint after the second stage of treatment (from 46.5±1.83 to 77±13.91 points on the KSS scale). The second stage involved the installation of a cement-fixed total endoprosthesis. At long-term follow-up, 35.2±6.1 months. in 86.7% of cases, eradication of the infectious process was noted; the average functional result on the KSS scale was 77±13.91 points. *Conclusions.* Thus, the use of two-stage endoprosthetics in the treatment of nonspecific gonitis allows one to achieve satisfactory results.

Key words: nonspecific drives; primary drives; sharp drives; articulating spacer; two-stage endoprosthetics

Введение

К гонитам относится этиологически разнородная группа воспалительных заболеваний коленного сустава, в том числе специфический (туберкулезный, гонорейный, дизентерийный и др.), неспецифический (или септический, гнойный гонит, чаще вызываемый кокковой флорой) и асептический артрит (например, при ревматоидном артрите, болезни Бехтерева) [1,2]. Неспецифический гонит у взрослых - остро возникающее состояние, трудно поддающееся лечению, имеющее склонность к быстрому прогрессированию и рецидивирующее течение, ведущее к необратимой потере функции коленного сустава. Иногда это заболевание становится опасным для жизни, приводя к развитию сепсиса [3]. Ежегодно количество случаев септического артрита в США

составляет около 8 на 100 тыс. пациентов, в Западной Европе и Австралии показатель является сопоставимым - от 4 до 10 случаев на 100 тыс. пациентов в год [4]. Из-за большого разнообразия микроорганизмов, являющихся причиной заболевания, частого развития подострого и хронического течения процесса, индивидуальных клинических особенностей отмечаются трудности диагностики септического артрита. Нередко сопровождающие это состояние изменения со стороны других органов могут маскировать основное заболевание [5]. В литературе имеются существенные разногласия в вопросах диагностики септического артрита, поскольку четкий алгоритм его диагностики отсутствует. Обязательными лабораторными критериями являются наличие лейкоцитоза, увеличение уровня СРБ и СОЭ в анализе крови. «Золотым стандартом» диагностики является выделение возбудителя при микробиологическом исследовании синовиальной жидкости коленного сустава [6]. Однако зачастую предшествующая антибиотикотерапия способствует получению отрицательных результатов исследования. В последнее время все чаще используется подсчет общего количества полиморфноядерных нейтрофилов и лейкоцитов в синовиальной жидкости сустава, а также исследование биохимических маркеров инфекционного процесса (пресепсин, прокальцитонин, эстераза лейкоцитов). Это особенно важно при наличии отрицательного результата микробиологического исследования. Сложность диагностики, частота диагностических ошибок, время ожидания результатов обследования обуславливают длительный срок от момента начала заболевания до постановки диагноза. От ранней диагностики и своевременно начатого лечения зависят исходы заболевания, так как микроорганизмы и продуцируемые ими токсины могут необратимо повредить хрящ и субхондральную кость всего за несколько дней [7]. По разным оценкам, от 25% до 50% случаев септического артрита заканчиваются необратимой потерей функции суставов. Лечение неспецифического гонита зачастую является длительным процессом и требует неоднократных оперативных вмешательств. В литературе описаны различные методы лечения: консервативный (антибиотикотерапия), пункционный, артроскопический дебридмент, санационная артротомия, резекционная артропластика. Резекционная артропластика, как правило, выполняется при необратимых изменениях в суставе с последующим выполнением тотального эндопротезирования. Малое количество публикаций, невысокая частота встречаемости заболевания, нетипичная клиническая картина, трудности диагностики, отсутствие единой тактики лечения, сложность и уникальность каждого конкретного случая септического артрита обусловливают актуальность изучения данного заболевания.

Цель исследования - оценить эффективность варианта лечения гонита в виде двухэтапного эндопротезирования с установкой артикулирующего спейсера на первом этапе.

Материалы и методы

В ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары), далее – Центр, с марта 2009 по декабрь 2020 года по поводу неспецифического гонита пролечен 31 пациент. В исследуемой группе – 14 мужчин (45,2%) и 17 женщин (54,8%).

При поступлении на первый этап двухэтапного эндопротезирования пациенты проходили стандартный клинический осмотр с оценкой возможных причин развития заболевания при сборе анамнеза (например, предшествующее инвазивное вмешательство). Оценка функционального состояния пораженного коленного сустава (КС) осуществлялась по шкале KSS. При необходимости проводилось дополнительное обследование с использованием лабораторных и лучевых методов диагностики.

В общеклиническом анализе крови (ОАК) оценивали общее количество лейкоцитов, наличие нейтрофилеза, повышение СОЭ, в коагулограмме – уровень Д-димера, в биохимическом анализе крови – уровень С-реактивного белка (СРБ). Лучевые методы диагностики включали проведение компьютерной томографии (КТ), рентгенографии и ультразвукового исследования (УЗИ) КС.

До операции выполняли пункцию КС с подсчетом общего количества клеток в 1 мкл, процентного содержания нейтрофилов в них. Проводилось микробиологическое исследование пункционного биоматериала, полученного до операции [8]. Полученный аспират помещали в аэробный и анаэробный флаконы анализатора Bact/Alert с инкубацией до 14 суток. Повторно для более точной верификации диагноза пункцию КС проводили также интраоперационно, непосредственно перед вскрытием капсулы сустава. Осуществлялся забор тканевых биоптатов (из 4–6 различных точек, объемом до 1 $см^3$) и аспирата из полости сустава. Полученный биоматериал помещали в кровяной агар, шоколадный агар, агар Шедлера и бульонную среду.

С целью оценки санации костной и мягких тканей на втором этапе лечения исследовали изъятые интраоперационно компоненты спейсеров после их обработки в УЗ-машине BRANSON 8510 (США) в течение 5 мин. при частоте 40±2 Кгц и мощности 0,22±0,04 $Вт/см^2$ с дальнейшим посевом полученных смывов. Учитывая необратимые анатомические изменения в КС и острый воспалительный процесс во всех случаях, выполняли этапное лечение с установкой артикулирующего спейсера на 1 этапе и проведением тотального эндопротезирования КС в последующем.

Двухэтапный метод лечения был предпочтительным, поскольку выполнение тотального эндопротезирования в один этап при наличии острого инфекционного процесса в суставе сопряжено с высокими рисками инфекционных осложнений. Все операции

выполнялись в положении пациента на спине под спинномозговой анестезией с использованием переднего парапателлярного доступа. Устанавливали перестерилизованный бедренный компонент с покрытием серебром [9]. Использовали тибиальный компонент All Poly PS. Во всех случаях в цемент добавляли 2-7 г ванкомицина, в зависимости от количества цемента, при этом доля ванкомицина в цементе составляла 5-10% (от 2 до 4 г ванкомицина на порцию цемента в 40 г). В большинстве случаев при отсутствии большой кровопотери и обширных гнойных затеков рана не дренировалась.

После операции пациенты получали длительную антибиотикотерапию (6-8 недель): в период пребывания в стационаре использовали парентеральный путь введения комбинации двух антибиотиков, амбулаторно прием препаратов продолжался перорально [10]. Средний срок госпитализации на 1 этапе лечения составил 9,8±0,7 суток. Второй этап хирургического лечения выполняли в срок от 50 до 371 дня после первого этапа (в среднем 121±21,1 дня). Длительный промежуток между этапами был обусловлен наличием противопоказаний к оперативному лечению у пациентов.

Перед вторым этапом проводилось повторное клинико-лабораторное обследование. Сроки антибиотикотерапии после второго этапа также составляли 6-8 недель. Средний срок госпитализации на втором этапе лечения составил 8,7±0,5 суток.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета анализа программы Microsoft Excel 2007.

Результаты

У пациентов отмечен разный срок от начала заболевания до поступления в Центр (от 6 дней до 6 лет). Основной жалобой служило появление болевого синдрома разной интенсивности. Повышение температуры тела выше 38°С в анамнезе отмечено в 100% случаях. По данным анамнеза, гонит развился гематогенно [11]. Отмечено, что 19 из 31 пациентов указали на предшествующую травму (падение на область сустава), 2 –на тяжелую физическую нагрузку, 1 – на переохлаждение. У 9 пациентов выявить факторы риска развития заболевания не удалось. Клиническое обследование всех пациентов выявило тяжелое нарушение функции КС с выраженным болевым синдромом, хромотой, ограничением объема движений и использованием дополнительной опоры при ходьбе (средний балл по шкале KSS 38,1±1,74). При лабораторном обследовании всех пациентов в ОАК лейкоцитоз выявлен во всех случаях, нейтрофилез - во всех случаях. Повышение СОЭ более 30 мм/час отмечено в 27 случаях. СРБ исследовали в 31 случае, все результаты превышали допустимый уровень 5 мг/л. Повышение Д-димера свыше 500 нг/мл отмечено в 29 случаях из 31, свыше 5000 нг/мл – у 2 пациентов. Дополнительные методы диагностики (КТ, рентгенография, УЗИ), подтверждали диагноз гонита с характерными изменениями в

виде формирования костных дефектов, нечеткости контуров суставных поверхностей, кистозной перестройки, локального остеопороза, наличия жидкости в суставе, истончения суставной щели и синовита, бурсита, признаков остеомиелита [12]. Пункция КС до первого этапа операции выполнена в 100% случаев. В одном пунктате обнаружен рост Staphylococcus aureus, в одном случае – Staphylococcus lugdunensis, в двух случаях - Klebsiella pneumoniae, в остальных случаях результаты посевов были отрицательными. Подсчет количества клеток в синовиальной жидкости (n=31) до операции выявил повышенный цитоз (свыше 2000 в 1 мкл). Нейтрофилез наблюдался в 31 случаях из 31. Интраоперационно повышенный цитоз (свыше 2000 клеток в 1 мкл) выявлен в 100% случаев.

По результатам посева интраоперационного материала, в 2 из 31 случаев обнаружен рост Staphylococcus aureus, у одного пациента подтвердилось присутствие Staphylococcus lugdunensis, в двух случаях Klebsiella pneumoniae. Положительные результаты посева пунктата до операции составили 16,1% (5 из 31), изъятого во время операции материала – 100% (31 из 31), что свидетельствует о более низкой чувствительности микробиологического исследования интраоперационного биоматериала. Таким образом, в целом инфекционный генез заболевания подтвердился данными микробиологического исследования более чем у 1/6 больных. У остальных пациентов с культуронегативным результатом наличие инфекционного процесса подтверждено другими клинико-лабораторными методами, при этом морфологические исследования биоматериала не проводились [4]. Второй этап эндопротезирования проведен во всех случаях. К моменту 2 этапа лечения у пациентов отмечено улучшение функционального состояния оперированного КС (средний балл по шкале KSS 46±1.83). Помимо купирования воспалительного процесса, этому способствовало сохранение артикуляции в суставе. При лабораторном обследовании перед 2 этапом незначительный лейкоцитоз и повышение СОЭ выявлено в 87%, увеличение Д-димера – в 93,5% случаев, увеличение СРБ (7,7 мг/л) – в 100% случаев. Результаты всех пункций КС перед 2 этапом были отрицательными [13]. Цитоз был значительно повышен (до 77500 клеток в 1 мкл) в 1 случае из 31. По нашему мнению, это может быть вызвано сохранением локального воспалительного процесса в суставе после 1 этапа. Поскольку в динамике другие клинико-лабораторные показатели регрессировали до нормальных значений, был проведен второй этап эндопротезирования КС в соответствии со стандартной схемой. В течение первого года после второго этапа реинфицирования эндопротеза не отмечено, на отдаленном сроке наблюдения 2 года 3 мес. (n=1) функциональный результат по шкале KSS составил 87 баллов, пациент лечением удовлетворен. Результаты интраоперационного посева перед 2 этапом лечения были

отрицательными в 100% исследований (n=12). Во всех 31 случаях на 2 этапе установлен постоянный эндопротез. Отдаленные результаты лечения оценены у всех пациентов, прошедших 2 этап лечения (n=31). Средний срок наблюдения составил 35,2±6,1 мес. Функциональный результат по шкале KSS составил 82,2±4,0 балла.

Ограничением исследования явился неполный охват пациентов исследованием уровня пресепсина и прокальцитонина, поскольку данные исследования проводятся исключительно для дифференциальной диагностики; в нашей работе сомнений в процессе диагностики гонита не наблюдалось.

Заключение

По итогам нашего исследования, доля пациентов с подтвержденным диагнозом гонита составляет малую часть случаев, поступающих на оперативное лечение в стационар ортопедического профиля: 0,03% пациентов за период с марта 2009 по декабрь 2020 года.

Отмечена сложность диагностики первичного гонита при отсутствии признаков острого инфекционного процесса. Стандартное клинико-лабораторное обследование при госпитализации не всегда позволяет выявить данное заболевание. Часть диагностических методов дает отрицательные результаты, в том числе микробиологическое исследование интраоперационного материала.

Диагноз «Гонит» можно установить на основе дополнительного обследования, включающего сбор анамнеза (острое начало, связь с травмой, предшествующее инвазивное вмешательство в области КС, повышение температуры тела), результаты лучевых методов диагностики (при этом результаты томографии более убедительны), лабораторного и микробиологического обследования на всех этапах диагностики.

В сравнении с изменениями в общеклинических исследованиях большую значимость имеют следующие диагностические тесты: определение пресепсина, прокальцитонина в биохимическом анализе крови, цитоза в пунктате сустава с подсчетом процента нейтрофилов.

Локализация инфекционного процесса в суставе позволяет санировать очаг без вскрытия костно-мозгового канала (для профилактики распространения инфекции). Используемый при этом бедренный компонент спейсера, с покрытием серебром легко и менее травматично удаляется на 2 этапе.

Использование двухэтапного эндопротезирования с применением артикулирующих спейсеров различной конфигурации при лечении неспецифического гонита позволяет добиться удовлетворительных результатов лечения. На отдаленном сроке наблюдения месяцев эрадикация инфекционного процесса достигнута в 100% случаев при хороших функциональных результатах по шкале KSS.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitchell M, Howard B, Haller J, Sartoris DJ, Resnick D. Septic arthritis. *Radiol Clin North Am*. 1988 Nov;26(6):1295-313. PMID: 3051098.

2. Ross JJ. Septic arthritis. *Infect Dis Clin North Am*. 2005 Dec;19(4):799-817. doi: 10.1016/j.idc.2005.07.004. PMID: 16297733.

3. Белов Б.С., Макаров С.А., Бялик Е.И. Бактериальный (септический) артрит и инфекция протезированного сустава. *Научно-практическая ревм*атология. 2017;55(2):192-200.

4. Elsissy JG, Liu JN, Wilton PJ, Nwachuku I, Gowd AK, Amin NH. Bacterial Septic Arthritis of the Adult Native Knee Joint: A Review. *JBJS Rev*. 2020 Jan;8(1):e0059. doi: 10.2106/JBJS.RVW.19.00059. PMID: 31899698.

5. Теплякова О.В., Руднов В.А., Шлыкова Г.И., Доценко Т.Г.. Септический артрит у взрослых. *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химио*терапия.2015;17(3):187-206.

6. Назаров Е.А, Селезнев А.В. Дегенеративно-дистрофические заболевания коленного и голеностопного суставов. Изд.: СпецЛит, 2020. 182 с.

7. Горовиц Д.Л., Кацап Э., Горовиц С., Барилла-Ла Барка МЛ. Подход к септическому артриту. 2011;84(6):653-60.

8. De Franco C, Artiaco S, de Matteo V, Bistolfi A, Balato G, Vallefuoco S, Massè A, Rosa D. The eradication rate of infection in septic knee arthritis according to the Gächter Classification: a systematic review. *Orthop Rev (Pavia)*. 2022 Apr 25;14(2):33754. doi: 10.52965/001c.33754. PMID: 35774928; PMCID: PMC9239385..

9. Куляба Т.А., Корнилов Н.Н., Тихилов Р.М. Руководство по первичному эндопротезированию коленного сустава. Санкт- Петербург: НМИЦ ТО им. Твердый переплет, 636 стр., илл. ISBN 978-5-6040358-7-0.

10. Shirtliff ME, Mader JT. Acute septic arthritis. *Clin Microbiol Rev.* 2002 Oct;15(4):527-44. doi: 10.1128/CMR.15.4.527-544.2002. PMID: 12364368; PMCID: PMC126863.

11. Ross JJ. Septic Arthritis of Native Joints. *Infect Dis Clin North Am*. 2017 Jun;31(2):203-218. doi: 10.1016/j.idc.2017.01.001. Epub 2017 Mar 30. PMID: 28366221.

12. García-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2011 Jun;25(3):407-21. doi: 10.1016/j.berh.2011.02.001. PMID: 22100289.

13. Gigante A, Coppa V, Marinelli M, Giampaolini N, Falcioni D, Specchia N. Acute osteomyelitis and septic arthritis in children: a systematic review of systematic reviews. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019 Apr;23(2 Suppl):145-158. doi: 10.26355/eurrev_201904_17484. PMID: 30977881.

ПРОФИЛАКТИКА КОХЛЕОВЕСТИБУЛЯРНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ СТАПЕДОПЛАСТИКЕ У БОЛЬНЫХ ОТОСКЛЕРОЗОМ

Н.Л. Кунельская[1,2], Е.В. Гаров[1,2], Е.Е. Загорская[1], О.В. Ковтун[1*]

[1]ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ (директор – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков), 117152, г. Москва, Россия

[2]Кафедра оториноларингологии им. академика Б.С. Преображенского лечебного факультета ФГБАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ России (зав. кафедрой – член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, проф. А.И. Крюков), 117997, г. Москва, Россия

**e-mail*: kovtunka95@mail.ru

Введение

Хирургическое лечение тугоухости является эффективным методом реабилитации у 58-97% (для КВИ ≤10 дБ) больных отосклерозом (ОС) [Зеленкова В.Н., 2013; Vincent R. et al., 2010; Ralli G. et al., 2012]. После проведения стапедопластики у больных ОС может возникнуть острая нейросенсорная тугоухость (ОНСТ): у 0,2-0,95% - после первичной операции, у 2,9% - после рестапедопластики, у 4,8% - после стапедопластики при облитерирующей форме ОС, у 0,7% - у больных старшей возрастной группы [Vincent R. et al., 2010; Bartel R. et al., 2020].

На сегодняшний день, в отечественной и общемировой практике целесообразность назначения глюкокортикостероидов (ГКС) в лечении ОНСТ различного генеза не оспаривается [Celik C. et al., 2018]. Однако, нет серьезных отечественных исследований, посвященных схемам, режимам дозирования, преимуществам разных способов введения препаратов группы ГКС и срокам терапии при острых кохлео-вестибулярных расстройствах.

Экспериментальные исследования и практика показывают различную динамику слуха в зависимости от системного и интратимпанального введения препарата. Преимуществом местного применения ГКС заключается в уменьшении симптомов головокружения и субъективного ушного шума, возникших на фоне ОНСТ. Различен эффект преднизолона и дексаметазона. Так дексаметазон обладает лучшим противовоспалительным действием и имеет преимущество у пациентов с ОНСТ аутоиммунной природы, а преднизолон - показал свою эффективность у пациентов с гидропически обусловленной ОНСТ [MacArthur C. et al., 2015; Leung M. et al., 2016; Singh A., Kumar Irugu D., 2019].

Основная схема терапии ОНСТ, принятая в большинстве стран мира, заключается в назначении в качестве стартовой терапии системных ГКС, при наличии противопоказаний к

данному варианту лечения – интратимпанальное введение препаратов. При отсутствии положительной динамики от основного курса лечения в течение 2 недель возможно назначение поддерживающей «терапии надежды» в виде интратимпанальных инъекций с продолжением до 6 недель [Lee J. et al., 2011; Plontke S. et al., 2018].

Цель исследования - повышение эффективности хирургического лечения пациентов с ОС посредством оценки показаний и эффективности разных способов гормональной терапии после стапедопластики.

Материалы и методы исследования. В научно-исследовательском отделе микрохирургии уха Института с 2020 по 2023 гг. проведено обследование и хирургическое лечение 112 пациентов с ОС: 83 - женщины в возрасте от 20 до 75 лет и 29 - мужчин в возрасте от 20 до 62 лет. Средний возраст пациентов составлял 44±10,5 лет. Большая часть пациентов (90%, n= 101) были в трудоспособном возрасте (от 24 до 60 лет).

У всех пациентов имелось снижение слуха: с одной стороны - у 26,8%, двустороннее 73,2%. Разницу во времени появления тугоухости на одно и другое ухо в пределах до 5 лет отметили 10,7% пациентов, от 6 до 10 лет – 9,8%, свыше 10 лет – 4,4%.

Всем больным до операции проведено комплексное обследование (включая отомикроскопию, тональную пороговую аудиометрию, ТПА, акустическую импедансометрию и компьютерную томографию, КТ, височных костей с денситометрией). После операции ТПА выполнялась в динамике через 2 и 7 суток, 3, 6 и 12 месяцев после операции.

В зависимости от данных предоперационного обследования, течения операции, динамики порогов костной проводимости (КП) после вмешательства и способа применения ГКС пациенты были распределены на 4 группы:

1 группа (n=45) (средний возраст - 46,7±4,4 лет) – пациенты, которые не получали ГКС терапию после операции в связи с отсутствием осложнений во время операции и неосложненным послеоперационным периодом;

2 группа (n=22) (средний возраст - 48±6,8 лет) - пациенты, которые получали гормональную терапию местно с помощью установки биоабсорбируемых коллагеновых губок, пропитанных ГКС, в нишу круглого окна [Кунельская Н.Л. и соавт., 2021]. В данной группе пациентов возникли интраоперационные сложности и терапия ГКС проводилась для профилактики послеоперационных осложнений;

3 группа (n=32) (средний возраст - 45±2,8 лет) - пациенты, которые получали ГКС терапию системно в виде внутривенных инъекций. Показаниями к её назначению были смешанная тугоухость до операции и интраоперационные сложности;

4 группа (n=13) (средний возраст - 43,6±5 лет) - пациенты, у которых ГКС терапия проведена местно и системно, что обусловлено возникшими сложностями во время стапедопластики и повышением порогов КП в послеоперационном периоде.

У больных 1-й группы средние значения костно-воздушного интервала (КВИ) на всём диапазоне частот до операции составили 34±2,5 дБ, средние значения порогов КП - 21±2,5 дБ, воздушного звукопроведения (ВП) - 54±3,4 дБ. По данным КТ височных костей фенестральная локализация очагов ОС выявлена у 43 (95,5%) и смешанная – у 2 (4,5%) пациентов. По данным денситометрии было выявлено 12 (26,7%) случаев активного ОС (плотность очагов < +1000 HU). В данной группе пациентов облитерирующей формы ОС выявлено не было.

У больных 2-й группы по данным ТПА средний КВИ в диапазоне 0,25 – 2 кГц составил 36±3,7 дБ, а на всем диапазоне частот - 34±3,9 дБ; средние значения порогов КП и ВП в диапазоне разговорных частот - 25±4,8 дБ и 56±5,1 дБ, соответственно. Фенестральная локализация очагов ОС по данным КТ выявлена у 15 (68%), смешанная – у 7 (32%) больных. По данным денситометрии в 6 (26,7%) случаях выявлен активный процесс и 3 случая облитерации: в одном - облитерация круглого окна, во втором - резко утолщенная подножная пластинка стремени и в третьем - комбинированная облитерация круглого окна и ниши окна преддверия.

У больных 3-й группы средняя величина КВИ по данным ТПА на всем диапазоне частот составила 34,5±3,2 дБ, средние значения порогов КП - 21,6±3,3 дБ и ВП - 55±4,3 дБ. Фенестральная локализация очагов ОС по данным КТ височных костей в данной группе пациентов выявлена у 25 (78%) пациентов, смешанная – у 7 (22%). При измерении плотности очагов у 8 (25%) пациентов выявлен активный ОС и у 2 - облитерация окна преддверия.

У больных 4-й группы средний КВИ по данным ТПА на всем диапазоне частот составил 35,6±4,5 дБ, КП в диапазоне разговорных частот - 20,0±3,8 дБ и ВП - 55±4,9 дБ. По данным КТ височных костей было выявлено 10 случаев фенестральной локализации очагов ОС и 3 - смешанной. В 6 случаях по данным денситометрии отмечался активный процесс, в 2 случаях - облитерация основания стремени, при этом в одном из них с облитерацией круглого окна.

Результаты исследования. При анализе результатов аудиологического исследования, расположения очагов ОС и их активности по данным КТ височных костей в соответствии с новой клинико-рентгенологической классификацией ОС тимпанальная форма ОС выявлена у 61,6% больных, смешанная - у 38,4% (табл. 1) [Крюков А.И. и соавт., 2023]. Очаги ОС в области переднего полюса отмечены в 92 (82%) случаях, смешанной

локализации - в 14 (в 12,5%), облитерирующие - в 6 (5,4%). Следует отметить, что при тимпанальной форме ОС выявлены очаги ОС смешанной локализации. 32 (28,6%) пациента до операции получали инактивирующую терапию в связи активными очагами ОС.

Таблица 1

Распределение пациентов по новой клинико-рентгенологической классификации (n=112)

Форма ОС по данным ТПА	Характеристика очагов ОС по данным КТ ВК	1 группа (n=45)	2 группа (n=22)	3 группа (n=32)	4 группа (n=13)	Всего:
Тимпанальная (пороги КП<20 дБ на разговорных частотах) Всего: 69 (61,6%)	Iа – передний полюс (активный процесс)	9 (20%)	2 (9%)	3 (9,5%)	4 (30%)	18 (16%)
	IIа – облитерация окна преддверия (активный процесс)	0 (0%)	1 (4,5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,9%)
	IIIа – смешанная локализация очагов (активный процесс)	0 (0%)	1 (4,5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,9%)
	Iб – передний полюс (неактивный процесс)	19 (43%)	6 (27%)	12 (37,5%)	6 (46%)	43 (38,3%)
	IIб – облитерация окна преддверия (неактивный процесс)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (8%)	2 (1.8%)
	IIIб – смешанная локализация (неактивный процесс)	0 (0%)	1 (4,5%)	3 (9,5%)	0 (0%)	4 (3,5%)
Смешанная (пороги КП>20 дБ на разговорных частотах) Всего: 43 (38,4%)	Iа – передний полюс (активный процесс)	2 (4%)	1 (4,5%)	4 (12,5%)	1 (8%)	8 (7,2%)
	IIа – облитерация окна преддверия и очаги в улитке (активный процесс)	0 (0%)	1 (4,5%)	0 (0%)	1 (8%)	2 (1.8%)
	IIIа – смешанная локализация (активный процесс)	1 (2%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	2 (1.8%)
	Iб – передний полюс (неактивный процесс)	13 (29%)	6 (27%)	4 (12,5%)	0 (0%)	23 (20,5%)
	IIб – облитерация окна преддверия и улитки (неактивный процесс)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	1 (0,9%)
	IIIб – смешанная локализация (неактивный процесс)	1 (2%)	3 (13,5%)	3 (9,5%)	0 (0%)	7 (6.2%)

Всем 112 пациентам выполнено хирургическое лечение в объеме стапедопластики под местной анестезией. Наиболее часто использованной методикой стапедопластики являлась частичная стапедэктомия с применением титанового протеза, установленного на аутовену (n=68, 60,7%); реже использовался аутохрящевой протез, помещённый на аутовену

(n=40, 35,7%), поршневая методика (n=4, 3,6%) из-за выраженной облитерации окна преддверия (табл. 2).

Таблица 2

Методики стапедопластики в группах (n=112)

Методика стапедопластики	1 группа (n=45)	2 группа (n=22)	3 группа (n=32)	4 группа (n=13)	Всего:
Аутохрящ на аутовенозный трансплантат	17 (37,8%)	14 (64%)	6 (19%)	3 (23%)	40 (35,7%)
Титановый протез на аутовенозный трансплантат	28 (62,2%)	8 (36%)	23 (72%)	9 (69%)	68 (60,7%)
Поршневая	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)	1 (8%)	4 (3,6%)
Всего:	45 (100%)	22 (100%)	32 (100%)	13 (100%)	112 (100%)

При анализе протоколов операций в большинстве случаев (45,5%) проведение стапедопластики усложнялось повышенным кровотечением из тканей в зоне операции, что может быть следствием особенностей системы гемостаза пациента, так и признаком активного ОС. Мягкие и сильно кровоточащие очаги были обнаружены у 5 (4,5%) пациентов, что свидетельствует об активности процесса.

Согласно статистическим расчетам, наиболее значимыми для определения тактики проведения ГКС терапии являются интраорпеационные осложнения: повышенная кровоточивость тканей и вестибулярная реакция на момент открытия преддверия ($p \leq 0,001$), попадание крови в преддверие, ощущение “пустого» преддверия и Gusher-синдром ($p \leq 0,05$). Менее значимыми являлись такие факторы как активный процесс, облитерация основания стремени и круглого окна, мобилизация/перелом основания стремени ($p > 0,05$).

В 1 и 2 группе в послеоперационном периоде не наблюдалось повышения КП и острого вестибулярного головокружения, что можно объяснить отсутствием во время операций осложнений. Статистически значимо результаты аудиологического исследования после операции больных этих двух групп не различались ($p > 0,05$). Пациентам 3 и 4 группы, у которых возникали интраоперационные сложности и послеоперационные осложнения, была назначена системная ГКС. Статистически значимо результаты аудиологического исследования после операции больных 3 и 4 группы также не различались ($p > 0,05$). Сравнительный анализ результатов аудиологического исследования после операции больных 1 и 2 группы с таковыми 3 и 4 групп выявил статистическую значимую разницу ($p < 0,001$), т.е. послеоперационные осложнения оказывали влияние на функциональные результаты операции.

Во всех группах пациентов средние значения порогов КП на частотах 0,5 - 2 кГц на 2 и 7 сутки после операции были выше, чем до операции. Через 3 месяца выявлена тенденция

к их снижению (рис. 1). У больных всех групп статистически значимых изменений порогов КП на вышеуказанных частотах не выявлено за весь период наблюдения, в том числе через 1 год (p>0,05).

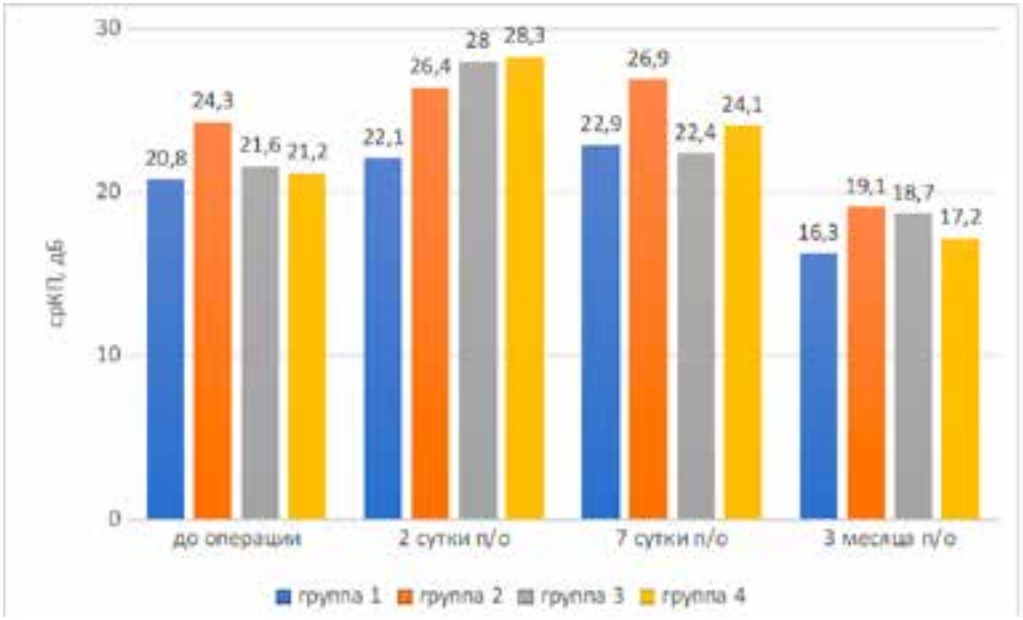


Рис. 1. Динамика средних значений порогов КП на частотах 0,5-2 кГц до и после стапедопластики в группах сравнения

Анализ эффективности проведенного хирургического лечения пациентов с ОС определялся по остаточному КВИ после операции (отличный результат - КВИ < 10 дБ, хороший - КВИ < 20 дБ и удовлетворительный - КВИ < 30 дБ). Оценка сокращения КВИ выполнялась на 7 сутки, 3, 6 и 12 месяцев после операции. Статистическая обработка данных свидетельствует о достоверности различий между дооперационными значениями и значениями на 7 сутки после операции на всех исследуемых частотах в каждой группе пациентов. В течение 1 года наблюдается постепенное уменьшение величин КВИ, при этом при контрольной ТПА через 12 месяцев выявлено сокращение КВИ до 10 дБ в 78,6% случаев во всех группах, при этом лучшие результаты достигнуты в 1 и 2 группах (табл. 3).

Таблица 3

Динамика КВИ в различные сроки после стапедопластики в группах

Группа	Отличный результат		Хороший результат через 1 год	Удовлетворительный результат через 1 год
	7-е сутки	через 1 год		
1 группа (n=45)	14 (31%)	41 (91%)	3 (7%)	1 (2%).
2 группа (n=22)	3 (14%)	17 (77%)	4 (18%)	1 (5%)
3 группа (n=32)	3 (9,4%)	21 (66%)	11 (34%)	0 (0%)
4 группа (n=13)	2 (15%)	9 (69,2%)	3 (23,2%)	1 (7,6%)
Всего (n=112):	22 (19,6%)	88 (78,6%)	21 (18,8%)	3 (2,6%)

Выводы

При отсутствии интраоперационных сложностей и благоприятном течении послеоперационного периода, которое встречается у 40,2% больных ОС при стапедопластике, возможно ведение пациентов без назначения превентивной системной ГКС терапии после хирургического лечения. В случае возникновения сложностей во время операции и отсутствия острого КВР в послеоперационном периоде использование местной гормональной терапии может быть достаточным для достижения высокого функционального результата. Назначение системной гормональной терапии рекомендовано в случае возникновения КВР в послеоперационном периоде для лечения и профилактики дальнейшего ухудшения порогов КП и нарастания системного головокружения. Согласно статическим расчетам, наиболее значимыми для определения тактики проведения ГКС терапии являются интраоперационные осложнения: повышенная кровоточивость тканей и вестибулярная реакция на момент открытия преддверия ($p \leq 0{,}001$), а также попадание крови в преддверие, ощущение “пустого» преддверия и Gusher-синдром ($p \leq 0{,}05$). Назначение ГКС терапии, согласно сформированным показаниям, позволяют достигать высокой эффективности хирургического лечения в виде сокращения КВИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зеленкова В.Н. Лазерная стапедопластика у больных отосклерозом: Автореф. дисс... канд. мед. наук. М. 2013: 29.
2. Vincent R., Rovers M., Zingade N., Oates J., Sperling N., Devèze A., Grolman W. Revision stapedotomy: operative findings and hearing results. A prospective study of 652 cases from the otology-neurotology database. Otol Neurotol. 2010; 31(6): 875-882. https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e3181e8f1da
3. Ralli G., Mora R., Nola G., Guastini L. Day-case stapedotomy: Is it a viable option? Acta Oto-Laryngologica. 2012; 132: 21–26.
4. Bartel R., Sanz J., Clemente I., Simonetti G., Viscacillas G., Palomino L., Asarta I., Lao X. Endoscopic stapes surgery outcomes and complication rates: a systematic review. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol. 2020; 278(8): 2673-2679.
5. Çelik Ç., Ceylan M., Aliyeva A., Düzenli U., Dalgıç A. The effect of perioperative i.v. corticosteroids on hearing outcome following stapedotomy. ENT Updates. 2018; 8(2): 82–87. https://doi.org/10.32448/entupdates.458981
6. MacArthur C., Hausman F., Kempton B., Trune D. Intratympanic steroid treatments may improve hearing via ion homeostasis alterations and not immune suppression. Otol Neurotol. 2015; 36(6): 1089-1095. https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000725

7. Leung M., Flaherty A., Zhang J., Hara J., Barber W., Burgess L. Sudden sensorineural hearing loss: primary care update. Hawaii J Med Public Health. 2016; 75(6): 172-174.
8. Singh A., Kumar Irugu D. Sudden sensorineural hearing loss – a contemporary review of management issues. J Otology. 2019; 15 (2): 67-73 https://doi.org/10.1016/j.joto.2019.07.001
9. Lee J., Choi S., Park K., Park H., Choo O., Choung Y. The efficiency of intratympanic dexamethasone injection as a sequential treatment after initial systemic steroid therapy for sudden sensorineural hearing loss. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2011; 268(6): 833–839. https://doi.org/10.1007/s00405-010-1476-8
10. Plontke S. Diagnostics and therapy of sudden hearing loss. GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg. 2018; 16: Doc05. https://doi.org/10.3205/cto000144 7.
11. Кунельская Н.Л., Гаров Е.В., Гарова Е.Е., Янюшкина Е.С., Пряхина М.А., Якушева М.О., Ларионова Э.В. Патент на изобретение № 2749692 от 16.06.2021 г. «Способ пролонгации действия лекарственного препарата при интратимпанальном введении на структуры внутреннего уха». Заявка № 2020142670 от 23.12.2020 г. Бюл. 17.
12. Крюков А.И., Гаров Е.В., Зеликович Е.И., Сидорина Н.Г., Загорская Е.Е., Федорова О.В., Зеленкова В.Н., Куриленков Г.В., Мосейкина Л.А., Калошина А.С., Киселюс В.Э., Сударев П.А., Гарова Е.Е. Клинико-рентгенологическая классификация отосклероза. Вестник оториноларингологии. 2023; 88(5): 12–18. https://doi.org/10.17116/otorino202 38805112

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ БЕССИМПТОМНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТАЗОБЕДРЕННЫХ СУСТАВАХ ВЗРОСЛЫХ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ФУТБОЛИСТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И ДОМИНИРОВАНИЯ КОНЕЧНОСТИ

Г.И. Малякин, Е.С. Капралова, Т.М. Вахидов, Э.Н. Безуглов

Введение: В настоящее время существует дефицит исследований, в которых изучалось распространённость бессимптомных изменений в тазобедренных суставах и их связь с возрастом и доминированием одной из конечности у профессиональных футболистов.

Цель исследования: Изучение распространённости бессимптомных изменений в тазобедренных суставах у взрослых профессиональных футболистов и взаимосвязи количества этих изменений с возрастом и доминированием конечности.

Материалы и методы*:* Взрослые профессиональные футболисты мужского пола (n = 47, возраст 24,5 ± 5,4 года, рост 181,5 ± 5,7 см, индекс массы тела 22,8 ± 1,3) прошли МРТ с помощью сканеров мощностью 1,5 Тесла, результаты которых были проанализированы независимо друг от друга двумя опытными радиологами. Анализировались частота встречаемости остеоартрита (ОА) тазобедренного сустава по классификациям Келлгрена-Лоуренса и SHOMRI, фемороацетабулярный импинджмент (ФАИ), дисплазии тазобедренного сустава и наличие/отсутствие os acetabuli.

Результаты: В 63 (67%) тазобедренных суставах было выявлено от 1 до 5 изменений. В 46,8% всех тазобедренных суставов определялся ОА 1 степени (по классификации Келлгрена-Лоуренса), а у 18,1% ОА 2-й степени. У 35,1% футболистов ОА обнаружено не было. Общая распространённость ФАИ составила 32%, при этом ФАИ по типу pincer встречался в 27,7% случаев, по типу cam – в 11,7%, при этом смешанный тип был обнаружен в 6,4% изображений. Эти изменения не связаны с доминированием той или иной ноги, но взаимосвязаны между собой. При этом наличие остеоартрита связано с возрастом (p=0,006)

Выводы: Среди взрослых профессиональных асимптомных футболистов достаточно часто встречаются ФАИ и ОА в том числе второй степени. Полученные данные не позволяют сделать вывод о том, что игра в футбол влияет на распространенность и выраженность ФАИ типа cam и повреждения суставной губы в асимптоматичных тазобедренных суставах.

Ключевые слова: травмы тазобедренного сустава, ведущая нога, остеоартрит, бедренно-ацетабулярное соударение

Введение

Занятия профессиональным спортом не только обуславливают повышенный травматизм, но и приводят к развитию большого количества изменений в крупных суставах, описанных во многих исследованиях с участием спортсменов разного возраста и соревновательного уровня. [1, 2]

Футбол можно считать одним из самых популярных видов спорта в мире и поэтому неудивительно, что существует несколько исследований, посвящённых распространённости бессимптомных изменений в суставах нижних конечностей и факторам риска их возникновения у футболистов. [3-5]

В большинстве исследований основным предметом изучения становится как раз остеоартрит (ОА) и фемороацетабулярный импинджмент (ФАИ), которые наиболее часто диагностируются при выполнении рентгенографии по величине альфа-угла и LCEA соответственно. [6] Однако использование такого метода исследования как магнитно-резонансная томография позволяет верифицировать не только ФАИ, но и целый ряд других изменений, включая отёк костной ткани, повреждения суставной губы, синовит и изменений круглой связки. Любое из указанных выше изменений, выявленное при выполнении МРТ тазобедренных суставов на фоне получения травмы или постепенного развития болевого синдрома на фоне специфичных для футбола нагрузок, может привести к выбору неадекватной тактики лечения.

Цель исследования: изучить распространённость бессимптомных изменений в тазобедренных суставах у взрослых профессиональных футболистов и влияния возраста и доминирования конечности на их частоту и выраженность.

Материалы и методы

В этом кросс-секциональном исследовании, проводившемся с декабря 2016 года по январь 2020 года, участвовали профессиональные футболисты мужского пола, которым с использованием магнитно-резонансной томографии было получены и проанализированы изображения тазобедренных суставов.

Все эти футболисты проходили осмотр перед подписанием контракта с футбольными клубами высшего дивизиона одной из европейской страны, которая в период исследования входило в число десяти лучших согласно рейтингу УЕФА. Все участники исследования занимались футболом с 6-7 лет и являлись или являются членами взрослых или молодежных команд сборных своих стран и провели за свою карьеру не менее 80 матчей в профессиональных лигах своих стран.

Критерии включения в исследование были следующими:

- Возраст 18 лет и старше;

- Отсутствие жалоб со стороны тазобедренных суставов в течение 12 месяцев до выполнения МРТ;

- Отсутствие в анамнезе хирургических операций на тазобедренных суставах и в паховой области;

- Отсутствие пункций тазобедренных суставов в анамнезе;

- Подписание контракта с клубом только после полного медицинского обследования, включающего МРТ тазобедренных суставов;

- Отсутствие в течение следующих 12 месяцев после подписания контракта травм тазобедренных суставов и операций на тазобедренных суставах.

Критериями исключения были следующие:

- Перенесенные раннее оперативные вмешательства на тазобедренных суставах или в паховой области;

- Начало регулярных занятий футболом в возрасте позже 8 лет;

- Отказ от участия в исследовании.

Анализ изображений

Все изображения были обработаны с помощью eFilm Workstation (версия 4.2.2; IBM) и сохранены для последующего анализа. Все изображения были независимо проанализированы двумя радиологами с опытом работы со спортсменами не менее 7 лет (A.V.G., E.Y.S.). Они не знали о возрасте участников, их типе и уровне физической активности, а также о том, принадлежат ли изображения правой и левой конечностей одному и тому же человеку. В случае разногласий между радиологами окончательное решение принимал третий независимый радиолог (A.P.S.).

Магнитно-резонансная томография

Все МР-сканирования выполняли с помощью МРТ-сканеров (Philips Ingenia и Siemens Magnetom) с индукцией магнитного поля 1,5 Тесла, с использованием Multi-phased array coils. Для анализа использовались изображения в сагиттальной, аксиальной и корональной плоскостях с использованием стандартных импульсных последовательностей. Толщина срезов была 3-4 мм.

При выполнении МРТ оценивалось состояние тазобедренных суставов и окружающих их тканей по следующим параметрам: остеоартрит тазобедренного сустава по классификациям

Келлгрена-Лоуренса и SHOMRI (от англ. - Scoring Hip Osteoarthritis Using MRI - оценка степени остеоартрита тазобедренного сустава с использованием МРТ), ФАИ, дисплазия тазобедренного сустава и наличие/отсутствие os acetabuli. Отдельно оценка по системе SHOMRI суставного хряща, отека костного мозга и субхондральные кисты оцениваются в 10 субрегионах: бедренная кость (передний, задний, верхнелатеральный, верхнемедиальный, латеральный и нижний субрегионы) и вертлужная впадина (передний, задний, верхнелатеральный и верхнемедиальный субрегионы). [7]

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен в программе Jamovi 2.4.8. Для анализа распространенности применен частотный анализ и рассчитаны %. Для расчета взаимосвязи количества изменений и возраста, веса, роста и ИМТ использована порядковая регрессия; для расчета связи наличия/отсутствия каждого изменения с возрастом, весом, ростом и ИМТ использована логистическая регрессия. Для установления взаимосвязи изменения в доминирующей и недоминирующей ноге; взаимосвязи изменений между собой – критерий Хи-квадрат. Для различия балла SHOMRI – критерий Манна-Уитни, для влияния возраста и балла SHOMRI – регрессионный анализ. Уровень значимости принят < 0.05.

Результаты

Были проанализированы данные МРТ 47 взрослых профессиональных футболистов мужского пола (средний рост - 181,5 ± 5,7 см, вес - 75,1 ± 6,8 кг, индекс массы тела - 22,8 ± 1,3), получены изображения 94 тазобедренных суставов соответственно. Распределение по возрасту в анализируемой выборке было ненормальным: медиана составила 24,5 года с межквартильным диапазоном 5,4 года. Левая нога была доминирующей у 13 (27,7%) игроков, а правая – у 34 (72,3%). Распространённость изменений в тазобедренных суставах всех футболистов, участвующих в исследовании, составила 67% (63 сустава) – в них было выявлено от 1 до 5 изменений (более 5 изменений выявлено не было).

При анализе распространённости тех или иных изменений было выявлено широкое распространение синдрома ФАИ. Общая распространённость ФАИ составила 32%, при этом ФАИ по типу pincer встречался в 27,7% случаев, по типу cam – в 11,7%, при этом смешанный тип был обнаружен в 6,4% изображений (Рисунок 1).

Средние значения альфа-угла в изучаемой выборке составили 49,7±7,7 градусов (95% ДИ: 48,1-51,3), LCEA 38,8±4,7 (95% ДИ :37,8-39,8).

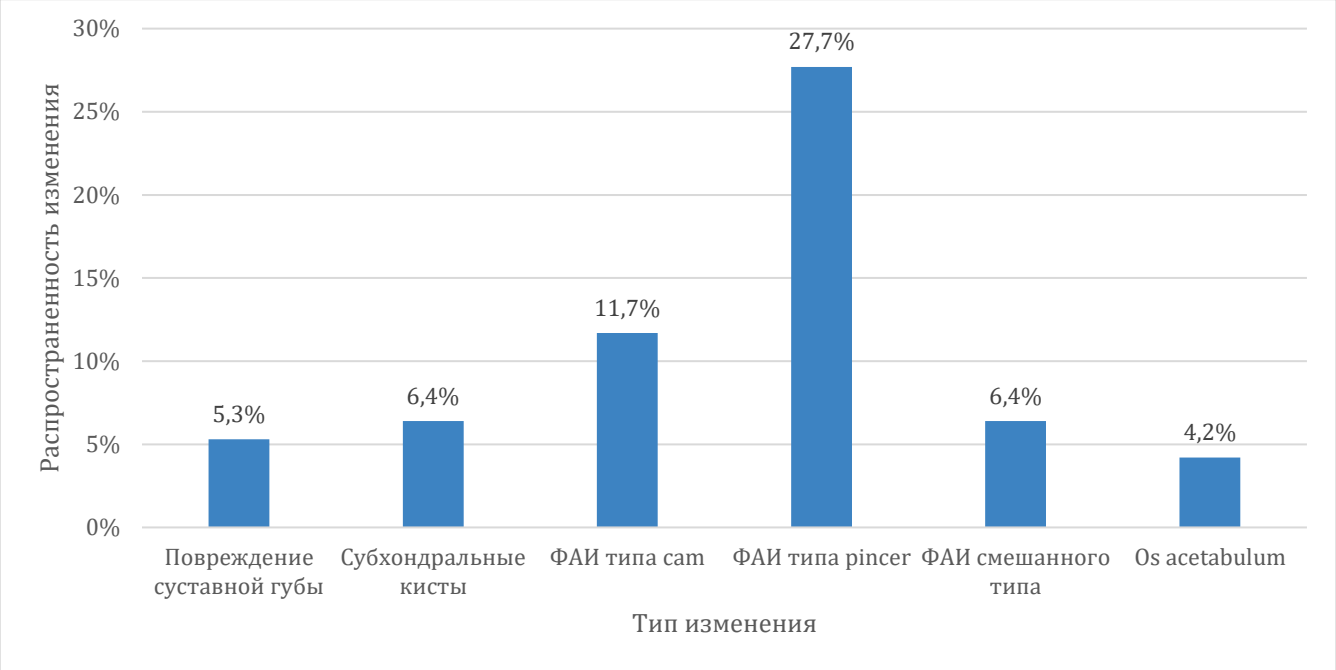


Рисунок 1. Распространенность бессимптомных изменений в тазобедренных суставах взрослых профессиональных футболистов

В 46,8% (44 сустава) всех тазобедренных суставов определялся остеартрит (ОА) 1 степени по классификации Келлгрена-Лоуренса, у 17% (16 суставов) ОА 2-й степени. У 35,1% футболистов ОА обнаружено не было.

При оценке выраженности ОА по классификации SHOMRI было выявлено ненормальное распределение анализируемых признаков (среднее – 2,1, медиана – 1,5, межквартильный диапазон – 4 (минимум – 0, максимум – 11)). При построении регрессионной модели выявлена значимое влияние возраста на балл SHOMRI ($p<0,001$).

Не было выявлено значимой связи между количеством изменений и возрастом, весом, ростом или ИМТ (Таблица 1).

Фактор	**Оценка**	**95% ДИ**	**P**
Возраст	0,07	-0,14; 0,16	0,10
Рост	68,7	-33,6; 171,2	0,19
Вес	-0,8	-2,1; 0,40	0,19
ИМТ	2,9	-1,2; 7,0	0,17

Таблица 1. Взаимосвязь между количеством изменений с возрастом, весом, ростом и ИМТ среди взрослых профессиональных футболистов

При изучении взаимосвязи между распространённостью каждого из анализируемых изменений с возрастом, весом, ростом и ИМТ была обнаружена значимая связь между увеличением возрастом и наличием остеоартрита и субхондральных кист (Таблица 2).

Изменение	**Возраст**	**Рост**	**Вес**	**ИМТ**
Повреждение губы	0,061	0,70	0,33	0,07
Субхондральные Кисты	0,004; ОШ 1,3 95% ДИ 1,1-1,5	0,75	0,79	0,47
ФАИ типа cam	0,25	0,43	0,87	0,54
ФАИ типа pincer	0,44	0,80	0,77	0,57
остеоартрит	0,006; ОШ 1,2 95% ДИ 1,05-1,35	0,63	0,13	0,06
Os acetabuli	0,97	0,78	0,67	0,72

Таблица 2. Взаимосвязь между распространённостью каждого из анализируемых изменений с возрастом, весом, ростом и ИМТ среди взрослых профессиональных футболистов

Обнаружены значимые взаимосвязи между ФАИ cam и ФАИ pincer (p=0,009), ФАИ cam и ОА (p=0,007), ФАИ pincer и ОА (p<0,001) и повреждение губы и субхондральной кистой (p=0,001), а также наличием os acetabuli и отсутствием ФАИ по типу pincer (p=0,005). По критерию корреляции Спирмена не было значимой связи между альфа-углом (p=0,27), LCEA (p=0,58) и возрастом.

Значимых различий в количестве изменений между доминирующей и недоминирующей конечностями выявлено не было (Таблица 3).

Изменение	**Ведущая**	**Неведущая**	**p**
ФАИ типа cam	6	5	1,0
ФАИ типа pincer	15	11	0,49
Повреждение губы	1	4	0,36
Субхондральные кисты	1	5	0,20
Остеоартрит	31	30	1,0
Os acetabuli	2	2	1,0

Таблица 3. Распространённости изменений в доминирующей и недоминирующей конечностях профессиональных взрослых футболистов

Обсуждение

В проведенном исследовании было обнаружено широкое распространение синдрома ФАИ и остеоартрита второй степени среди футболистов, не предъявляющих жалобы на тазобедренные суставы.

Частота встречаемости ФАИ была ниже, чем в раннее проведенных исследованиях с участием футболистах и хоккеистах. [8-10] Это может быть связано со спецификой спорта взрослого элитного уровня, наличия или отсутствия симптомов, а также с диагностическими критериями, которые использовались для определения этой патологии.

Так, в исследовании на американских футболистах колледжа Kapron et al в качестве критерия ФАИ типа cam применялся альфа-угол более 50*, и в этом исследовании распространённость была 55%. [11] Исследований на элитных футболистах, где применялся альфа-угол 50* нами обнаружено не было. В другом исследовании это состояние диагностировалось при альфа-угле 55*, распространенность составляла 68% [6]. В проведенном нами исследовании распространенность составляла 11.7%, при этом использовался альфа-угол 60* согласно Цюриховскому консенсусу. В одном из немногих исследований на футболистах, где критерием также служил альфа-угол более 60*, распространенность данной деформации составляла 26%. [12] При этом имеются исследования с таким же альфа-углом, где распространенность ФАИ типа cam была ещё более высокой. [13, 14] Однако необходимо помнить, что перечисленные исследования неоднородны по наличию жалоб и симптомов со стороны тазобедренного сустава.

В отношении распространенности ФАИ среди спортсменов на основании результатов большинства исследований, можно сделать вывод о более широкой ее распространенности, чем среди представителей общей популяции. Так, Falotico et al продемонстрировали, что у профессиональных футболистов ФАИ встречается гораздо чаще, чем в общей популяции: 92.5% против 28.1%. [15] Более того, в исследовании Lahner et al. было показано, что среди полупрофессиональных игроков в футбол ФАИ типа cam в доминирующей ноге встречается чаще, чем у любителей: 62% против 27.3%. [16]

Важно отметить отсутствие в анализируемой выборке спортсменов с дисплазией тазобедренного сустава. Это может свидетельствовать о том, что данное изменение либо действительно вызывает определенную симптоматику у футболистов, либо ее наличие является нехарактерным для профессиональных футболистов, не имеющих жалобы на боли в тазобедренном суставе. [17, 18]

Одним из важных результатов проведенного исследования можно считать наличие ОА 2 степени среди футболистов, связь выраженности состояния с возрастом и отсутствия связи с доминирующей ногой. Это может быть связано с тем, что удельный вес ударов по мячу в общем тренировочном объеме не высок и наибольшая часть нагрузки связана с ускорениями, торможениями и сменами направления, которые не связаны с доминированиям конечности. При этом обнаруженная связь с наличием ОА и ФАИ типа cam представляется логичной. Изменения, свойственные ФАИ типа cam и смешанного типа, но не pincer, можно считать предиктором ОА. [18-21]

Одним из результатов исследования является обнаружение кист и их связь с более старшим возрастом. Это также кажется логичным, потому что их наличие связано с остеоратритом сустава. [22-23]

Данное исследование имело ряд ограничений. Во-первых, кросс-секционный дизайн исследования, который не позволил оценить динамику выявленных изменений. Во-вторых, отсутствие объективного инструментального контроля подвижности и силы мышц, окружающих сустав, так как определенное снижение силы и подвижности может не влиять на работоспособность и не вызывать жалобы. В-третьих, указанные выше различия в критерии альфа-угла, которые не позволяют корректно оценить полученные данные с другими исследованиями.

Заключение

Среди взрослых профессиональных асимптомных футболистов достаточно часто встречаются ФАИ и ОА в том числе второй степени. Эти изменения не связаны с доминированием той или иной ноги, но взаимосвязаны между собой. Полученные данные не позволяют сделать вывод о том, что игра в футбол влияет на распространенность и выраженность ФАИ типа cam и повреждения суставной губы в асимптоматичных тазобедренных суставах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tveit M. et al. Former male elite athletes have a higher prevalence of osteoarthritis and arthroplasty in the hip and knee than expected //The American journal of sports medicine. – 2012. – Т. 40. – №. 3. – С. 527-533.
2. Lindberg H., Roos H., Gärdsell P. Prevalence of coxarthrosis in former soccer players: 286 players compared with matched controls //Acta orthopaedica Scandinavica. – 1993. – Т. 64. – №. 2. – С. 165-167.

3. Marquez W. H. et al. Prevalence of labrum and articular cartilage injuries of the hip on 3T magnetic resonance imaging of asymptomatic elite soccer players //Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition). – 2019. – Т. 63. – №. 2. – С. 77-85.
4. Bezuglov E. et al. Asymptomatic foot and ankle abnormalities in elite professional soccer players //Orthopaedic Journal of Sports Medicine. – 2021. – Т. 9. – №. 1. – С. 2325967120979994.
5. Matiotti S. B. et al. MRI of the knees in asymptomatic adolescent soccer players: a case–control study //Journal of Magnetic Resonance Imaging. – 2017. – Т. 45. – №. 1. – С. 59-65.
6. Gerhardt M. B. et al. The prevalence of radiographic hip abnormalities in elite soccer players //The American journal of sports medicine. – 2012. – Т. 40. – №. 3. – С. 584-588.
7. Lee S. et al. Scoring hip osteoarthritis with MRI (SHOMRI): a whole joint osteoarthritis evaluation system //Journal of Magnetic Resonance Imaging. – 2015. – Т. 41. – №. 6. – С. 1549-1557.
8. Yépez A. K. et al. Prevalência da morfologia de impacto femoroacetabular em jogadores de futebol juvenil assintomáticos: estudo de ressonância magnética com correlação clínica☆ //Revista Brasileira de Ortopedia. – 2017. – Т. 52. – С. 14-20.
9. Johnson A. C., Shaman M. A., Ryan T. G. Femoroacetabular impingement in former high-level youth soccer players //The American journal of sports medicine. – 2012. – Т. 40. – №. 6. – С. 1342-1346.
10. Lerebours F. et al. Prevalence of cam-type morphology in elite ice hockey players //The American journal of sports medicine. – 2016. – Т. 44. – №. 4. – С. 1024-1030.
11. Kapron A. L. et al. Radiographic prevalence of femoroacetabular impingement in collegiate football players: AAOS Exhibit Selection //JBJS. – 2011. – Т. 93. – №. 19. – С. e111.
12. Agricola R. et al. The development of cam-type deformity in adolescent and young male soccer players //The American Journal of Sports Medicine. – 2012. – Т. 40. – №. 5. – С. 1099-1106.
13. Mosler A. B. et al. Ethnic differences in bony hip morphology in a cohort of 445 professional male soccer players //The American journal of sports medicine. – 2016. – Т. 44. – №. 11. – С. 2967-2974.
14. Tak I. et al. Hip range of motion is lower in professional soccer players with hip and groin symptoms or previous injuries, independent of cam deformities //The American journal of sports medicine. – 2016. – Т. 44. – №. 3. – С. 682-688.
15. Falotico G. G. et al. Professional soccer is associated with radiographic cam and pincer hip morphology //Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy. – 2019. – Т. 27. – С. 3142-3148.

16. Lahner M. et al. Comparative study of the femoroacetabular impingement (FAI) prevalence in male semiprofessional and amateur soccer players //Archives of orthopaedic and trauma surgery. – 2014. – T. 134. – C. 1135-1141.
17. O'Brien M. J. M. et al. Football Players With Hip Dysplasia: The Relationship Between Muscle Strength, Functional Performance, Self-reported Sport and Recreation, Cartilage Defects, and Sex. A Cross-sectional Study //journal of orthopaedic & sports physical therapy. – 2023. – T. 53. – №. 10. – C. 626-633.
18. Agricola R. et al. Pincer deformity does not lead to osteoarthritis of the hip whereas acetabular dysplasia does: acetabular coverage and development of osteoarthritis in a nationwide prospective cohort study (CHECK) //Osteoarthritis and Cartilage. – 2013. – T. 21. – №. 10. – C. 1514-1521.
19. Hoch A. et al. FAI morphology increases the risk for osteoarthritis in young people with a minimum follow-up of 25 years //Archives of orthopaedic and trauma surgery. – 2021. – T. 141. – C. 1175-1181.
20. Casartelli N. C. et al. Is hip morphology a risk factor for developing hip osteoarthritis? A systematic review with meta-analysis //Osteoarthritis and Cartilage. – 2021. – T. 29. – №. 9. – C. 1252-1264.
21. Pascual-Garrido C. et al. The pattern of acetabular cartilage wear is hip morphology-dependent and patient demographic-dependent //Clinical orthopaedics and related research. – 2019. – T. 477. – №. 5. – C. 1021.
22. Chang J. S. et al. Why do subchondral cysts occur at the medial aspect of the femoral head in hip dysplasia? //Hip International. – 2021. – T. 31. – №. 5. – C. 663-668.
23. Nakasone A. et al. Structural features of subchondral bone cysts and adjacent tissues in hip osteoarthritis //Osteoarthritis and Cartilage. – 2022. – T. 30. – №. 8. – C. 1130-1139.

ПРЕДИКТОРНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОБЪЕМА ФИБРОЗНОЙ ТКАНИ В УШКЕ ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЯ В ОТНОШЕНИИ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ, ВПЕРВЫЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННОЙ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ НИЗКОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО РИСКА

А.Р. Мингалимова[1], О.М. Драпкина[1]

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Москва

Резюме

Цель исследования. Оценить диагностическую значимость степени миокардиального фиброза в ушке правого предсердия (ПП), в отношении фибрилляции предсердий (ФП), впервые зарегистрированной на госпитальном этапе после операции коронарного шунтирования (КШ) у пациентов низкого хирургического риска.

Материал и методы. В одноцентровое наблюдательное исследование включено 80 пациентов, которым в плановом порядке была выполнена операция КШ на базе кардиохирургического отделения №1 ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», в период с декабря 2020 по май 2022 гг. В качестве конечной точки оценивали возникновение пароксизма ФП до 10 дней после операции КШ. Всем пациентам выполнялось электрокардиографическое исследование (ЭКГ), трансторакальное эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) с расчетом типов геометрии левого желудочка (ЛЖ), оценивались операционные показатели. Во время операции 61 пациенту была выполнена биопсия части ушка правого предсердия (ПП) с целью верификации выраженности миокардиального фиброза по 4-балльной шкале: 0 – интерстициальный фиброз отсутствует, 1 – незначительный фиброз, 2 – умеренный фиброз, 3 – выраженный фиброз.

Результаты. Все пациенты, включенные в исследование, согласно шкале EuroSCORE II соответствовали низкому риску развития послеоперационных осложнений. По результатам гистологического исследования в группе с ФП чаще регистрировалась умеренная и выраженная степень интерстициального фиброза в ушке ПП (p=0,003). На основании независимых факторов, ассоциированных с ФП сформулированы две многофакторные модели для прогноза развития аритмии, включающие наличие концентрической гипертрофии левого желудочка (КГЛЖ), отношения объема левого предсердия к площади поверхности тела (ЛП/ППТ) ≥34,4 кг/м2 и степени интерстициального фиброза в ушке ПП ≥ умеренной степени.

Заключение. Добавление к многофакторной модели данных гистологического исследования повышает значение коэффициента детерминации (R^2) Найджелкерка с 39% до 57%, и предсказательную ценность модели в отношении отрицательного результата с 78,9% до 84,7%, что свидетельствует о важном предикторном значении объема фиброзной ткани в ушке ПП в

отношении ФП, развившейся на госпитальном этапе после операции КШ у пациентов низкого хирургического риска.

Ключевые слова: коронарное шунтирование; миокардиальный фиброз; концентрическая гипертрофия левого желудочка; дилатация левого предсердия; фибрилляция предсердий.

Введение. Ишемическая болезнь сердца является одной из лидирующих глобальных причин смертности трудоспособного населения во всех странах мира, в том числе и в России. На сегодняшний день, несмотря на активное развитие методов чрескожных коронарных вмешательств и возможностей медикаментозной терапии, операция КШ остается наиболее эффективным методом лечения пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий [1]. Доказанная многолетним клиническим опытом эффективность и безопасность операции КШ не вызывает сомнений, однако поиск способов профилактики послеоперационных осложнений остается крайне актуальной темой как для практической кардиологии, так и для фундаментальной науки.

ФП является наиболее частым нарушением ритма после кардиохирургических операций, развивающимся в 20-40% случаев в среднем на 2-4 сутки послеоперационного периода и имеющим серьезные негативные последствия как для отдельных пациентов, так и для системы здравоохранения в целом [2]. Сопутствующая патология в виде сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы, ФП в анамнезе, сердечной недостаточности с низкой фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) оказывает значительное влияние на повышение хирургического риска, тем самым, повышая вероятность развития послеоперационной ФП [3]. В то время как пациенты низкого хирургического риска составляют недостаточно изученную и наиболее уязвимую группу, поскольку они не рассматриваются в качестве лиц, требующих проведения профилактических мероприятий в отношении ФП.

Ранее вклад миокардиального фиброза активно обсуждался и нашел подтверждение в рамках изучения возникновения и поддержания ФП, не ассоциированной с хирургическим вмешательством, в то же время патогенез послеоперационной ФП имеет ряд особенностей, сочетая исходные структурно-функциональные изменения предсердий, интраоперационное воспаление и послеоперационные инициирующие факторы.

Высокая распространенность патологии и отсутствие единой тактики инструментально-лабораторного обследования стали причинами поиска новых подходов к оценке и прогнозированию вероятности развития послеоперационной ФП у пациентов низкого хирургического риска.

Цель исследования. Оценить диагностическую значимость степени миокардиального фиброза в ушке ПП, в отношении ФП, впервые зарегистрированной на госпитальном этапе после операции КШ у пациентов низкого хирургического риска.

Материал и методы

В одноцентровое наблюдательное исследование включено 80 пациентов, которым в плановом порядке была выполнена операция КШ по общепринятой методике на базе кардиохирургического отделения №1 ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», в период с декабря 2020 по май 2022 гг.

Критерии включения в исследование: клиническая картина стенокардии напряжения 3-4 функционального класса; госпитализация с целью проведения операции КШ на момент включения в исследование; возраст старше 18 лет; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование: любая форма ФП в анамнезе; клапанная патология сердца, требующая хирургической коррекции; хроническая сердечная недостаточность с низкой ФВ левого желудочка; сахарный диабет 1 и 2 типа; гипотиреоз, гипертиреоз; выполнение операции КШ на фоне острого коронарного синдрома; ранние сроки перенесенного инфаркта миокарда (до 30 дней до госпитализации).

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами Надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России за No02–04/20 от 19.03.2020. При поступлении в стационар все пациенты подписывали информированное согласие на лечение и участие в научном исследовании.

Диагноз ФП после операции КШ выставлялся при диагностике пароксизма ФП, продолжающегося не менее 30с, зарегистрированного в условиях кардиохирургической реанимации (1-2 сутки после операции); на участке записи ЭКГ при появлении симптомов ФП (до 10 суток после операции) или во время 24-часового ХМ-ЭКГ на 7-10 сутки (перед выпиской) после операции КШ (с целью диагностики бессимптомной ФП).

Инструментальное обследование включало методы: ЭКГ (аппарат WelchAllyn CP 200 (США), ЭхоКГ (аппарат Vivid E9 от компании General Electric Healthcare, США).

Тип структурного ремоделирования ЛЖ определялся на основании расчетов отношения массы миокарда левого желудочка к площади поверхности тела (ММЛЖ/ППТ) и относительной толщины стенки левого желудочка (ОТС ЛЖ). Выделяли следующие типы структурного ремоделирования ЛЖ: нормальная геометрия ЛЖ (НГЛЖ): нормальное отношение ММЛЖ/ППТ ($\leq$95 г/м^2 для женщин и $\leq$115 г/м^2 для мужчин) и ОТС $\leq$0,42; концентрическое ремоделирование ЛЖ (КРЛЖ): нормальное отношение ММЛЖ/ППТ и ОТС >0,42; концентрическая гипертрофия

ЛЖ (КГЛЖ): увеличение отношения ММЛЖ/ППТ (>95 г/м^2 для женщин и >115 г/м^2 для мужчин) и ОТС >0,42; эксцентрическая гипертрофия ЛЖ (ЭГЛЖ): увеличение отношения ММЛЖ/ППТ и ОТС ≤0,42.

Гистологическое исследование ушка ПП было выполнено в отделении патологической анатомии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Фрагменты ушка ПП обрабатывались по стандартной методике и окрашивались Гематоксилином и Эозином и по Ван Гизону.

Степень выраженности фиброза оценивалась в 10 полях зрения при увеличении 200 на световом микроскопе Zeiss Axio Scope.A1 (Германия), по 4-балльной шкале:

0 – периваскулярный фиброз отсутствует;

1 – незначительный периваскулярный фиброз;

2 – умеренный периваскулярный и интерстициальный фиброз;

3 – выраженный периваскулярный и интерстициальный фиброз.

Наличие воспаления фиксировалось при выявлении >14 лимфоцитов и моноцитов/макрофагов на 1 мм^2 при окраске Гематоксилином и Эозином или при наличии ≥14 клеток инфильтрата на 1 мм^2 биоптата, наличии фиброза, но отсутствии признаков некроза и дистрофии кардиомиоцитов.

Риск хирургических осложнений оценивался согласно шкале EuroSCORE II (<4% – низкий риск, 4-8% – умеренный риск, >8% – высокий риск).

Статистический анализ проводили с помощью программ GraphPad Prism 8.3.0., Excel 2016 («Microsoft», США) и MedCalc SF. Количественные данные представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD) и медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25%; Q75%], качественные – в виде n (%). Различия между изучаемыми группами для непрерывных переменных проверялись с помощью U-критерия Манна – Уитни, для бинарных и номинальных показателей – с помощью критерия $\chi 2$ -квадрата Пирсона или точного критерия Фишера для малых выборок. Для оценки качества прогностических моделей, определения отрезных точек был проведен ROC-анализ. Различия считались значимыми при $p<0,05$.

Результаты

Все пациенты, включенные в исследование, имели низкий риск по шкале EuroSCORE II (EuroSCORE II <4%). В основную группу вошли 19 пациентов, ранний послеоперационный период которых осложнился развитием ФП, в среднем на 2,0 [2,0; 3,6] сутки. Группу без ФП составили 61 пациент, ранний послеоперационный период которых не осложнился развитием ФП. Пациенты в группе с ФП были статистически значимо старше, с меньшим ИМТ, более высоким уровнем креатинина крови и более высоким риском по шкале EuroSCORE II, таблица 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Показатель	Пациенты с ФП (n=19)	Пациенты без ФП (n=61)	p
Возраст, лет	67,00 [61,00; 72,75]	62,00 [57,25; 67,00]	0,03
Мужчины, n (%)	18 (94,7)	54 (88,5)	0,84
ИМТ, кг/м2, M±SD	26,90±2,77	29,00±3,96	0,04
ХОБЛ, n (%)	4 (20,0)	3 (5,0)	0,03
EuroSCORE II, %	1,3 [0,8; 2,5]	0,8 [0,7; 1,8]	0,03
Креатинин, мкмоль/л	97,8 [90,2; 106,5]	90,9 [84,2; 103,4]	0,04
СКФ, мл/мин/1,73 м2, M±SD	68,1±15,5	76,0±18,1	0,11
Фибриноген, г/л, M±SD	3,6±0,6	3,4±0,8	0,31

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, EuroSCORE II - The European System for Cardiac Operative Risk Evaluation, СКФ – скорость клубочковой фильтрации

При сравнении ЭхоКГ показателей до операции КШ отмечено, что в группе с ФП чаще диагностировались бóльшие значения отношения ММЛЖ/ППТ (121,00 [102,50; 157,50] г/м^2 vs 97,00 [78,75; 112,75] г/м^2; p=0,0006) и бóльшие значения отношения объема левого предсердия к площади поверхности тела (объем ЛП/ППТ) (35,00 [30,56; 40,48] мл/м^2 vs 29,85 [26,73; 34,40] мл/м^2; p=0,008). Фракция выброса ЛЖ была сопоставима в обеих группах (60,0 [48,0; 62,0] % в основной группе vs 58,0 [51,0; 61,0] % в группе контроля), p = 0,53.

По типам структурного ремоделирования группы распределились следующим образом: в группе с ФП у 52,6% (n=10) пациентов была диагностирована КГЛЖ, в то время как в группе без ФП большинство пациентов (83,6%, n=51) имели НГЛЖ и КРЛЖ (p<0,0001).

Гистологическое исследование биоптатов ушка ПП было выполнено 61 пациенту и выявило признаки его морфологического ремоделирования в обеих группах. Пример незначительного фиброза у пациента без ФП представлен на рисунке 1.

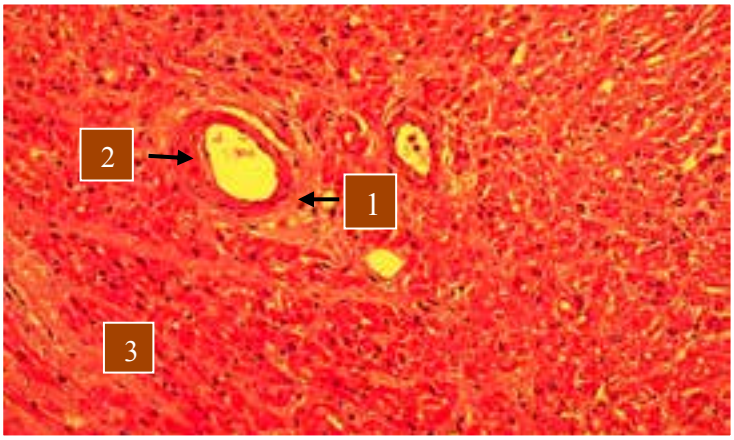


Рисунок 1. Незначительный периваскулярный фиброз в ушке ПП у пациента без ФП. Окраска гематоксилином и эозином х 200. Примечание: 1- незначительный периваскулярный фиброз, 2- артериола, 3- кардиомиоциты

Умеренный интерстициальный фиброз отличался увеличением объема фиброзной ткани и уменьшением объема кардиомиоцитов в поле зрения (Рисунок 2).

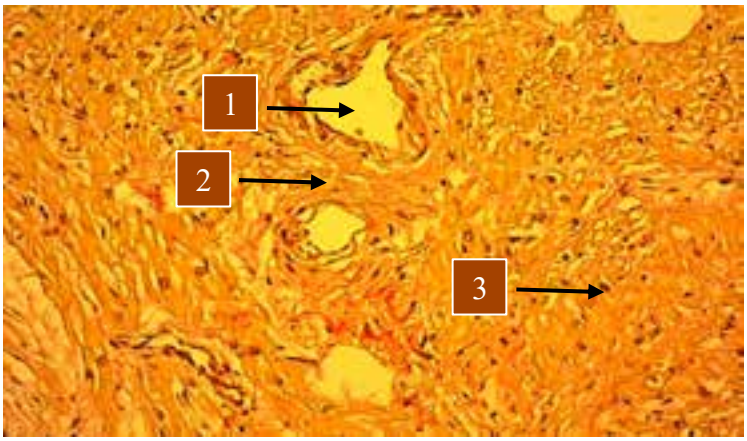


Рисунок 2. Умеренный интерстициальный фиброз в ушке ПП у пациента с ФП. Окраска по Ван Гизону х 200. Примечание: 1– артериола, 2– умеренно выраженный интерстициальный фиброз, 3– кардиомиоциты

Выраженный интерстициальный фиброз был диагностирован у 1 пациента в группе ФП, и характеризовался большим объемом зрелой, плотной волокнистой соединительной ткани. Границы между кардиомиоцитами нечеткие, ядра визуализируются плохо. Данные особенности определяют значительное визуальное уменьшение мышечной массы в поле зрения (Рисунок 3).

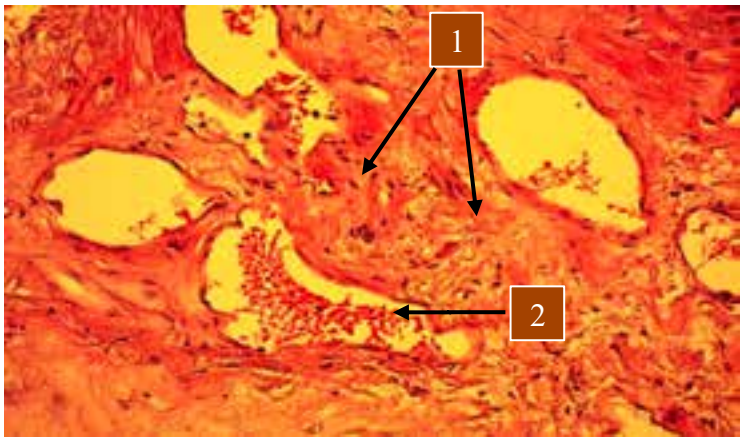


Рисунок 3. Выраженный интерстициальный фиброз в ушке ПП у пациента с ФП. Окраска гематоксилином и эозином х 200. Примечание: 1– выраженный интерстициальный фиброз, 2– артериола

Согласно результатам гистологического исследования в группе с ФП чаще регистрировался умеренный и выраженный фиброз в ушке ПП (n=8, 53,3%), в то время как в группе без ФП, в 86,95% случаев (n=40) был диагностирован незначительный нежно-волокнистый фиброз

(p=0,003). Признаков миокардиального воспаления выявлено не было, однако у ряда пациентов отмечена круглоклеточная инфильтрация эпикарда, не ассоциированная с ФП.

Для оценки связи инструментально-лабораторных параметров с пароксизмом ФП, показатели, достоверно различавшиеся между исследуемыми группами, первым этапом были включены в однофакторный анализ, затем в многофакторный регресионный анализ с поправкой на пол, возраст и операционные показатели.

В результате многофакторного анализа независимыми факторами, ассоциированными с ФП стали ММЛЖ/ППТ (ОШ - 1,04, 95% ДИ 1,00-1,07, p=0,03), наличие КГЛЖ (ОШ – 21,58, 95% ДИ 3,39 -171,23, p = 0,003), объем ЛП/ППТ (ОШ – 2,13, 95% ДИ 1,03 – 4,29, p = 0,04) и степень фиброза в ушке ПП (ОШ - 21,63, 95% ДИ 2,43 – 155,70, p = 0,007).

Следующим этапом для расчета пороговых значений факторов, независимо ассоциированных с развитием ФП, был выполнен ROC-анализ, и полученные предикторы были включены в 2 многофакторные регрессионные модели прогноза развития послеоперационной ФП:

1. Модель №1 (без включения результатов гистологического исследования);

2. Модель №2 (с результатами гистологического исследования).

Модель №1 статистически значима (df = 2; $\chi 2$ = 23,94; p <0,0001). Исходя из значения коэффициента детерминации (R^2) Найджелкерка, объясняет 39 % наблюдаемой дисперсии пациентов с ФП и включает:

1. Константа (коэффициент регрессии -2,450; p <0,0001),
2. Объем ЛП/ППТ ≥34,4 мл/м^2 (ОШ – 1, 49, 95% ДИ 1,26 – 15,64; p=0,02; коэффициент регрессии 1,491);
3. Наличие КГЛЖ (ОШ – 13,85; 95% ДИ 3,30 – 58,08; p=0,0003; коэффициент регрессии -2,628).

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$\mathbf{P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%,}$$

Где $z=-2,450+2,628A_{КГЛЖ}+1,491A_{объем\ ЛП/ППТ \geq 34,4\ мл/м^2}$

P – вероятность регистрации первичного пароксизма ФП на госпитальном этапе после операции КШ, A – предикторы ФП, представленные в виде бинарных переменных (0 – отсутствие фактора,1 – наличие фактора).

Площадь под ROC-кривой составила 0,829 с 95% ДИ 0,729 -0,904. Пороговое значение - 0,079. Риск развития ФП на госпитальном этапе после операции КШ прогнозируется при значении логистической функции P ≥0,079. Чувствительность и специфичность модели составили 84,9% и 72,3%, соответственно.

Модель №2 также статистически значима (df =3; $\chi 2$ =30,0; p <0,0001). Исходя из значения коэффициента детерминации (R^2) Найджелкерка, модель объясняет 57% наблюдаемой дисперсии пациентов с ФП и включает:

1. Константа (коэффициент регрессии -3,752; p <0,0001),
2. Объем ЛП/ППТ ≥34,4 мл/м^2 (ОШ – 6,04; 95% ДИ 1,12 – 32,65; p=0,04; коэффициент регрессии 1,799);
3. Наличие КГЛЖ (ОШ – 26,78; 95% ДИ 3,42 – 209,37; p=0,002; коэффициент регрессии -3,287);
4. Фиброз ушка ПП ≥ умеренной степени (ОШ – 17,05; 95% ДИ 2,48 – 116,78; p=0,004; коэффициэнт регрессии – 3,287).

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$\mathbf{P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%,}$$

Где $z=-3,752+3,287A_{КГЛЖ}+1,799A_{объем\ ЛП/ППТ\geq 34,4\ мл/м^2} + 1,799A_{\ фиброз\ ушка\ ПП\geq\ умеренной\ степени}$

P – вероятность регистрации первичного пароксизма ФП на госпитальном этапе после операции КШ, А – предикторы ФП, представленные в виде бинарных переменных (0 – отсутствие фактора, 1 – наличие фактора).

Площадь под ROC-кривой составила 0,914 с 95% ДИ 0,813-0,970. Пороговое значение составило 0,124. Риск развития ФП на госпитальном этапе после операции КШ прогнозируется при значении P ≥0,124. Чувствительность и специфичность модели составили 86,7% и 78,3%, соответственно.

При сравнении прогностических моделей №1 и №2 разность площадей под ROC-кривой составила 0,070 с 95% ДИ 0,021-0,162 (p=0,13). Также, по результатам расчетов, модели №1 и №2 имеют сопоставимо высокие значения предсказательной ценности положительного результата (78,9% для модели №1 и 79,1% для модели №2). В то время как дополнение модели №1 данными гистологического исследования повышает её предсказательную ценность в отношении отрицательного результата (84,7% vs 66,7% для модели без включения данных гистологического исследования), рисунок 4.

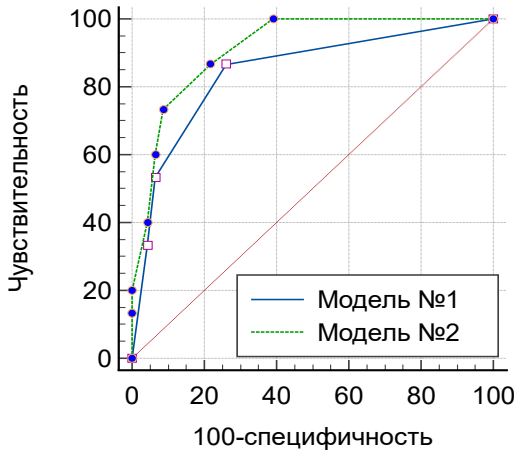


Рисунок 4. Сравнение ROC-кривых значений логистических функций P в отношении ФП, впервые зарегистрированной на госпитальном этапе после операции КШ

Обсуждение результатов

Несмотря на прогресс в кардиохирургии и внедрение новых методов профилактики, частота развития послеоперационной ФП не снижается на протяжении многих лет. В целом, по демографическим характеристикам группа пациентов с ФП была сопоставима с данными ранее выполненных исследований, что, несмотря на относительно небольшой объем выборки, свидетельствует о ее репрезентативности.

Концепция постинфарктного ремоделирования сердца занимает значительное место среди достижений современной кардиологии. Считается, что замедление релаксации левого желудочка, его гипертрофия и концентрическое ремоделирование ассоциируются с большей клинической тяжестью приступов ФП и увеличением риска внезапной сердечной смерти у пациентов с ИБС [4]. Подобные данные нашли подтверждение в выполненной работе: структурное ремоделирование миокарда ЛЖ по типу КГЛЖ увеличивало шансы развития аритмии в 21,58 раз (95% ДИ 3,39 – 171,23, p=0,003).

Несмотря на то, что механизмы развития и поддержания ФП обычно исходят из ЛП и легочных вен, практические и этические соображения подтолкнули нас к изучению образцов ткани из ПП, ограничение, характерное для многих предыдущих исследований [5,6]. Тем не менее, следует отметить, что ткань ушка ПП отражает большинство патологических изменений, наблюдаемых как при хронической ФП, так и при дилатационной кардиомиопатии [7].

Гистологическое исследование, как «золотой стандарт» диагностики миокардиального фиброза, продемонстрировало усугубление признаков структурного ремоделирования в группе пациентов с ФП. В частности, в ушках ПП, взятых на этапе подключения ИК, по итогам анализа, у пациентов с ФП, по сравнению с пациентами без ФП, чаще встречалась умеренная (46,67% против 13,05%) и выраженная степень интерстициального фиброза (6,66% против 0%, p=0,003).

Полученные результаты сопоставимы с результатами исследования Зарубиной Е.Ю. и соавт. (2005), в котором в группе пациентов с ФП после операции КШ в миокарде ушек ПП в 100% случаев наблюдался значительный интерстициальный фиброз и выраженные изменения миофибриллярного аппарата клетки, вплоть до миолиза [8]. В работе Nakai T. и соавт. (2007), степень интерстициального фиброза ушка ПП также имела тенденцию к корреляции с частотой развития послеоперационной ФП (p=0,08) [9]. Противоположные данные представили Cosgrave J. и соавт (2006), в которых у 94 пациентов не было обнаружено связи между 10 оцениваемыми признаками в ушках ПП, включая миолиз, фиброз и липофусциновую пигментацию с развитием послеоперационной ФП [6].

Таким образом, на основании результатов выполненного исследования можно сделать выводы, что дополнение данных предоперационного ЭхоКГ результатами гистологического исследования ушка ПП увеличивает не только значение коэффициента детерминации (R^2) Найджелкерка, но и повышает предсказательную ценность модели в отношении отрицательного результата, что имеет важное значение для практической кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, увеличивая выявляемость пациентов с высоким риском развития ФП после операции КШ, и как следствие - будет способствовать своевременному проведению медикаментозных и хирургических мер профилактики аритмии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акчурин Р.С. Хирургическое лечение ишемической болезни сердца / Акчурин Р.С., Ширяев А.А., Власова Э.Е. и др. // Русский Медицинский Журнал. – 2014. – №30. – С. 2152-2157
2. Бокерия Л.А. Современное состояние проблемы профилактики фибрилляции предсердий в раннем периоде после операций аортокоронарного шунтирования/ Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Гафуров Ф.С. // Новости хирургии. – 2018. – №5. – С. 605-615
3. Петракова Е.С. Фибрилляция предсердий после операций аортокоронарного шунтирования: факторы риска, профилактика и лечение/ Петракова Е.С., Савина Н.М., Молочков А.В. // Кардиология. – 2020. – №9. – С.134-148.
4. Попов В. В. Структурное и электрофизиологическое ремоделирование миокарда у больных ишемической болезнью сердца / В.В.Попов // Анналы аритмологии. – 2006. – №5. – С. 27– 36.
5. Nakai, T. Histologic Assessment of Right Atrial Appendage Myocardium in Patients with Atrial Fibrillation after Coronary Artery Bypass Graft Surgery / T. Nakai, J. Chandy, K. Nakai et al. // Cardiology. – 2007. – Vol. 108 (2). – P. 90–96.
6. J. Cosgrave. Preoperative atrial histological changes are not associated with postoperative atrial fibrillation / J. Cosgrave, J.B. Foley, R. Flavin et al. // Cardiovasc. Pathol. – 2006. – Vol. 15 (4). – P. 213 – 217.

7. Relationship between atrial histopathology and atrial fibrillation after coronary bypass surgery / G. Mariscalco, K.G. Engström, S. Ferrarese et al. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2006. Vol. 131 (6). – P. 1364–1372.
8. Зарубина, Е.Ю. Миолиз ткани предсердия как фактор риска развития фибрилляции предсердий в послеоперационном периоде у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование: дис. кандидат мед. наук.: 14.01.05/ Зарубина Елена Юрьевна. – М, 2005. – 164 с
9. Nakai, T. Histologic Assessment of Right Atrial Appendage Myocardium in Patients with Atrial Fibrillation after Coronary Artery Bypass Graft Surgery / T. Nakai, J. Chandy, K. Nakai et al. // Cardiology. – 2007. – Vol. 108 (2). – P. 90–96

ЭФФЕКТИВНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕРОД-УГЛЕРОДНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ТРАВМАТОЛОГИИ, ОРТОПЕДИИ И ХИРУРГИИ С ПЕРСПЕКТИВОЙ ИЗУЧЕНИЯ МЕТОДОМ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

П.К. Потапов (Pyotr Kirillovich Potapov), к.м.н., И.В. Маркин (Ilya Vladimirovich Markin), к.т.н, Е.А. Журбин, к.м.н., И.В. Хоминец (Igor Vladimirovich Khominets), к.м.н.

Введение

В современном мире конфликты чаще приобретают фрагментарный, тлеющий характер, в результате чего они становятся более трудноразрешимыми, продолжительными и уносят больше жизней. Политические, социально-экономические и проблемы милитаризации в разных государствах одного региона становятся взаимосвязанными и лишь усугубляют друг друга. Таким образом, разработка протоколов лечения раненых и пострадавших с боевыми ранениями остается актуальным вопросом хирургии и травматологии.

На основании базы данных кафедры военно-полевой хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, включающей в себя сведения из историй болезни 5581 раненого за вышеуказанный период времени, были проведены ретроспективные исследования летальных исходов (критерий включения) 451 раненного из общего числа, находившихся на лечении в военно-медицинских организациях [1].

Существующие стандарты в реконструктивной хирургии, травматологии и ортопедии предполагают использование собственных тканей пациента для замещения дефектов. Однако, дополнительный объем хирургического вмешательства, дополнительная травматизация и трудность позиционирования собственных тканей пациента ограничивают применение данного метода [2]. Среди других недостатков ранее применявшихся решений в костной хирургии основными являются: нехватка доноров или риск заражения в случае трансплантации, износ синтетических материалов, цитотоксичность и коррозия металлических предметов [3]. Поэтому, постоянно идет поиск новых биосовместимых материалов для решения широкого спектра клинических задач.

Революционные достижения последних десятилетий в реконструктивной хирургии – это создание и внедрение новых материалов и конструкций. Принято выделять три поколения материалов. Первое поколение – так называемые нетоксичные каркасы из биоматериалов, представляющих собой инертные структуры. На смену им пришли биоактивные материалы, на поверхности которых происходят биохимические реакции, связывающие их с окружающими тканями (второе поколение). В настоящее время активно исследуется и внедряется в клиническую практику третье поколение биоматериалов, которые дополнительно имитируют встречающиеся в природе структуры, такие как углерод-углеродные композитные материалы [4].

Современную реконструктивную хирургию опорно-двигательного аппарата трудно представить без широкого использования пластического замещения дефектов костей и суставов. Упрощение имплантации искусственных материалов, уменьшение травматичности и длительности вмешательства создали определенную альтернативу костно-пластическим операциям. К современным материалам, используемым для замещения костной ткани, предъявляют высокие требования. Они должны быть инертны по отношению к живым тканям, не канцерогенны, иметь достаточный запас механической прочности, быть стойкими к воздействию внутренней среды организма. Немаловажное значение имеет удобство стерилизации и отсутствие значительных затрат при их производстве. Имеющиеся сегодня материалы, применяемые для замещения дефектов костей и суставов, достаточно хорошо себя зарекомендовали. Вместе с тем, возможность получения единой биомеханической системы кость-имплантат, остается до конца нерешенной. В 60-е годы в качестве искусственного материала специалисты начали применять углерод. Главное его достоинство – инертность по отношению к живым тканям. Однако, механические свойства обычного углеродного материала не позволили применять его в условиях высоких и даже умеренных механических нагрузок [5].

Значительные успехи были достигнуты коллективом Уральского научно-исследовательского института композиционных материалов (АО «УНИИКМ», г. Пермь). Изучены и применены в клинической практике два варианта углеродных материалов: углерод-углеродный композиционный материал и высокопористый ячеистый углерод. Впервые реализована идея протезирования проксимального отдела бедра углерод-углеродным композиционным материалом со структурой и модулем упругости, близкими к нативной кости [6]. Впервые предложен эндопротез проксимального отдела бедра из углерод-углеродного композиционного материала [7].

Было доказано, что высокопористый ячеистый углерод прорастает костной тканью, образуя прямое прочное соединение без соединительнотканной прослойки. Данное положение подтверждено микроскопическими исследованиями костно-углеродных шлифов в отраженном свете светового и электронного микроскопа. Установлено, что при высокой пористости костные балки, прорастающие имплантат, повторяют или воспроизводят структуру губчатой кости, и дифференцировать имплантат и нативную кость в отдаленном периоде не представляется возможным. Выявлено, что после удаления костных опухолей не возникает опасности гиперплазиогенного эффекта вследствие абсолютной инертности углеродных материалов. Изучено, что имплантаты из углерод-углеродного композиционного материала не уступают по своим механическим и биологическим характеристикам другим искусственным материалам [9].

Основная часть

Первые опыты применения углеродного композита были проведены еще в 90-е годы XX столетия. Несмотря на то, что полный цикл исследований композиционных материалов не был проведен, они уже применялись в хирургической практике [8]. У материала было выявлено множество уникальных достоинств, однако, операции проводились только по временному разрешению (с личного согласия пациента) и широкого распространения не получили.

В 2015 году все снова заговорили о «чудесных» свойствах углерод-углеродного композита, когда врач ортопед-травматолог кандидат медицинских наук Фукалов А.Ю. в прямом смысле слова «поставил на ноги» горнолыжника Сергея Красносельских после сочетанной травмы ноги.

Не взирая на положительный опыт разработки имплантов из углеродных материалов, данные медицинские изделия столкнулись с рядом сложностей, а именно:

1. Недостаточный уровень изученности влияния используемых материалов на ткани, что требует дополнительных исследований с использованием мезенхимальных клеточных линий.

2. Присутствие на рынке имплантов из традиционных материалов (титан, его сплавы и керамика) в необходимом количестве.

Возвращение интереса к имплантам из углерода вернулось с началом Специальной Военной Операции. С учетом сложившейся обстановки возросла потребность в эндопротезах и имплантах отечественного производства, в том числе и по причине того, что традиционные материалы начал потреблять военно-промышленный комплекс [10].

На основе проведенного анализа сложившейся ситуации коллективами ФГАУ «ВИТ ЭРА» Минобороны России, АО «УНИИКМ» (г. Пермь) и ФГБУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко» Минобороны России построен дизайн исследования по изучению углерод-углеродного материала («углекон») и произведенных имплантов из данного материала с использованием методов клеточных технологий и физико-химических методов анализа. Учитывая вышеизложенное, возникает вопрос: зачем изучать новые композиционные материалы и импланты из них если ранее несколько лет назад уже изучены материалы, показывающий хороший результат?

Ответы на этот вопрос следующие:

1. Технологии не стояли на месте и АО «УНИИКМ» разработал новые материалы, а точнее производные от ранее разработанных материалов.

2. Разработаны новые технологии получения углерод-углеродных материалов.

3. Производственные мощности были переориентированы и переоснащены для производства новых углеродных композитов.

Поэтому, чтобы не повторять долгий путь исследований, решено ранее успешный опыт предыдущего поколения взять за основу в качестве новых исследований. А именно, отобрать и

проверить новые углеродные материалы для производства имплантов следующим образом: провести культивирование мезенхимальных клеточных линий в питательных средах с диспергированными образцами углеродных материалов, методами физико-химических анализа, исследовать питательные среды до и после культивирования клеточных линий. На основе проведенных экспериментальных исследований *in vitro* дать оценку биосовместимости углерод-углеродных материалов. Разработанный подход позволит на раннем этапе отказаться от цитотоксичных материалов и не проводить длительные, трудоемкие и дорогостоящие доклинические исследования на лабораторных животных. В результате, исследования *in vivo* уже будут проводиться только на отобранных с учетом высоких биологических и физико-химических показателей образцах.

В проведенном в 2009 году исследовании на животных сроки наблюдения поведения имплантатов с углерод-углеродным композиционным материалом на организм составляли 1, 3, 6 месяцев. Через месяц после имплантации материал вызывал слабую клеточную реакцию мягких тканей как реакцию на операционную травму. Признаков воспаления не было отмечено. Впоследствии, через 3 месяца клеточная реакция на имплантат отсутствовала. У некоторых животных наблюдалось нагноение в области имплантата, которое отмечалось в сроки от 1 до 2-х месяцев. В первом случае гнойный процесс был купирован вскрытием и дренированием абсцесса. Анализ макропрепаратов показал, что уже через месяц от мягких тканей имплантат был отделен тонкой соединительнотканной прослойкой. В данной серии экспериментов не было зарегистрировано ни отторжения имплантатов, ни нагноения послеоперационных ран.

Токсикологические исследования, проведенные в том же 2009 году показали, что при наблюдении за животными изменений во внешнем виде и физиологических реакциях отмечено не было. Через неделю после имплантации вокруг углеродного материала сформировалась тонкая соединительнотканная капсула без признаков воспаления. Через 4 месяца имплантаты сохраняли свою целостность, были заключены в тонкую соединительнотканную капсулу, коэффициенты массы внутренних органов (тимуса, сердца, печени, почек, селезёнки, лёгких) подопытных животных не отличались от контрольного уровня. Было установлено отсутствие мутагенного эффекта материала. Гистологическое исследование не выявило морфоструктурных изменений внутренних органов. Полученные результаты свидетельствуют об инертности углеродных материалов и отсутствии их неблагоприятного действия на организм.

Учитывая вышеизложенное, целесообразным виделось продолжить изучение углеродного композита с учетом появления новых методов исследований на современном оборудовании.

ЦЕЛЬ ПРОЕКТА – разработать линию имплантатов из углерод-углеродного композита для решения задач реконструктивной травматологии, ортопедии и хирургии.

Для реализации цели проекта были поставлены и решены **СЛЕДУЮЩИЕ ЗАДАЧИ**:

1. Разработка и производство имплантов из углерод-углеродного композитного материала.

2. Обобщение результатов оперативных вмешательств с применением имплантов из углерод-углеродных материалов в клинической практике.

3. Проведение культивирования клеточных линий в питательных средах, содержащих диспергированный углерод-углеродный материал.

4. Исследование с помощью физико-химических методов анализа питательных сред, содержащих диспергированный углерод-углеродный материал до и после культивирования клеточных линий.

5. Интерпретация результатов физико-химических исследований питательных сред, содержащих диспергированный углерод-углеродный материал до и после культивирования клеточных линий.

6. Определение (*in vitro*) цитотоксичности углерод-углеродных материалов.

7. Проведение доклинических исследований *in vivo* (местнораздражающее и общетоксическое действие) имплантов из углерод-углерода и иных материалов.

Непосредственно **НАУЧНОЙ НОВИЗНОЙ ДАННОЙ РАБОТЫ** является: внести технологические рекомендации в производство углеродных материалов нового поколения для дальнейшей их интеграции в медицинскую сферу в качестве имплантов.

Для реализации идеи ОАО «УНИИКМ» переданы в военный инновационный технополис «ЭРА» несколько образцов углерод-углеродного материала, которые в разное время применялись для оперативных вмешательств. Первым этапом исследования было культивирование мезенхимальных клеточных линий в питательных средах с диспергированным материалом и проведение экспериментов по оценке цитотоксичности материала. Результаты эксперимента показали отсутствие оказания отрицательного эффекта диспергированного материала на клетку. В соответствие с этим, материал рекомендован к последующим доклиническим исследованиям.

Параллельно ОАО «УНИИКМ» разработал и произвел серию имплантатов из материалов, устойчивых к инфицированию и биодеструкции:

– имплантат костезаполняющий;

– ножка эндопротеза тазобедренного сустава;

– имплантат для замещения деформации черепа,

– имплантат для замещения дефекта челюсти.

Сегодня проведен ряд уникальных оперативных вмешательств с добровольного согласия пациентов в травматологических центрах центральных госпиталей Министерства обороны Российской Федерации.

На данный момент, для расширения возможностей изучения имплантов из углеродного композита, несомненно важным шагом стало применение углеродных материалов для замещения дефектов бедра и челюсти у животных. Под руководством профессора А.А. Долгалева проведены эксперименты по имплантированию углерод-углеродного композиционного материала при закрытии критических дефектов челюстно-лицевой области и конечностей животных.

Положительные результаты вышеизложенного эксперимента in vivo позволят в дальнейшем существенно расширить линию имплантов для замещения дефектов костей.

Заключение

Таким образом, в последние десятилетия появились новые материалы, которые открыли новые перспективы в имплантации. Углерод-углеродные композиты стали объектом активных исследований в этой области благодаря своим уникальным свойствам.

Во-первых, импланты из углерода обладают исключительной прочностью и жесткостью. Это качество позволяет им успешно выдерживать высокие нагрузки. Во-вторых, углеродные материалы обладают высокой устойчивостью к износу и коррозии, что значительно продлевает срок службы имплантов. В-третьих, одной из наиболее важных характеристик углерод-углеродных материалов является их биологическая совместимость. Полностью инертные и нерастворимые вещества гарантируют отсутствие реакции организма на имплант, что минимизирует возможные осложнения и побочные эффекты.

Учитывая вышеизложенное, можно сделать вывод, что использование углерод-углеродных материалов при имплантации доказывает их высокий потенциал в улучшении результатов операций и повышении качества жизни пациентов. Использование углеродных эндопротезов в клинической практике представляет собой одну из передовых и инновационных технологий в области медицины.

Направлениями использования результатов являются возможности применения имплантов из углерод-углеродного композиционного материала при оперативных вмешательствах, как в лечебных учреждениях Минздрава России, так и в центральных госпиталях Министерства обороны Российской Федерации.

Промежуточные результаты проекта были удостоены многократными положительными отзывами пациентов с проведенными оперативными вмешательствами с применением имплантов на основе углерода, отмечены грамотами и наградами различных конкурсов под эгидой Министерства обороны Российской Федерации, в том числе, на международных военно-технических форумах «АРМИЯ-2022» и «АРМИЯ-2023».

ЛИТЕРАТУРА

1. Самохвалов И. М., Головко К. П., Бояринцев В. В. и др. Обоснование концепции раннего патогенетического лечения тяжелых ранений и травм // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2020. – N 3. – С. 23-28.

2. Кульбакин Д. Е., Егорова Д. Ю., Азовский Д. И. Биоимпланты – новая тенденция в реконструктивной хирургии // Вопросы онкологии. – 2020. – Т. 66. – N 3. – С. 228-232.

3. Lakes, R. S., Park, J. B. Biomaterials: An Introduction. – M: Springer US., Великобритания, 1992. – 394 с.

4. Chlanda A. et al. Fabrication, multi-scale characterization and in-vitro evaluation of porous hybrid bioactive glass polymer-coated scaffolds for bone tissue engineering // Materials science and engineering: C. – 2019. – Vol. 94. – P. 516-523.

5. Скрябин, В. Л. Новые углеродные материалы в реконструктивной хирургии костей и суставов : специальность 14.01.15 «Травматология и ортопедия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Скрябин Владимир Леонидович. – Пермь, 2010. – 38 с.

6. Патент № 2063729 C1 Российская Федерация, МПК A61F 2/32. эндопротез бедренной кости : № 5032533/14 : заявл. 07.02.1992 : опубл. 20.07.1996 / А. М. Вотинов, А. С. Денисов, Ю. А. Змеев и др. ; заявитель Уральский научно-исследовательский институт композиционных материалов.

7. Патент № 2116058 C1 Российская Федерация, МПК A61F 2/36. эндопротез бедренной кости : № 97101040/14 : заявл. 27.01.1997 : опубл. 27.07.1998 / Ю. К. Осоргин, В. Л. Скрябин, А. С. Денисов и др. ; заявитель Пермская государственная медицинская академия.

8. Синани И. Л. и др. Углерод-углеродные материалы для ортопедии и травматологии // Российский журнал биомеханики. – 2012. – N 2. – С. 74-82.

9. Фукалов, А. Ю. Оперативное лечение переломов мыщелков большеберцовой кости с нарушением конгруэнтности суставных поверхностей : специальность 14.00.22 : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Фукалов Андрей Юрьевич. – Пермь, 2006. – 118 с.

10. Перечень поручений по итогам заседания Совета по развитию гражданского общества и правам человека 7 декабря 2022 года [Электронный ресурс], 2023 г. – URL: http://kremlin.ru/acts/assignments/orders/70349

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ОБОСТРЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКОГО ЛАРИНГИТА

С.Г. Романенко, Д.И. Курбанова, Е.В. Лесогорова, Е.Н. Красильникова, Е.А. Сафьянникова

ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ (директор - член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. А.И. Крюков), г. Москва, Российская Федерация, 117152

Актуальность. Хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ) является предраковым заболеванием, наиболее часто встречается у мужчин трудоспособного возраста (средний возраст - 45 лет), характеризуется упорным рецидивирующим течением и нередко плохо поддается стандартным курсам консервативной терапии. [1] По данным исследований почти в 70% случаев при ХГЛ имеет место значимая микрофлора: в 40% - бактериальная, в 30% - грибковая, помимо этого, встречаются бактериальные, грибковые и грибково-бактериальные ассоциации. [2] Это обосновывает необходимость использования в процессе лечения антисептиков, антибактериальных или противогрибковых препаратов как местного, так и системного действия, что, однако, не всегда позволяет добиться ремиссии воспалительного процесса и эрадикации патогенов. Лечение больных с ХГЛ представляет известные трудности и не всегда бывает эффективным, при этом оно должно быть направлено не только на элиминацию бактериальной или грибковой инфекции, но и включать комплексную терапию хронического ларингита, которая зависит от выраженности симптомов и воспалительных явлений, проведенного ранее лечения, а также - имеющихся предрасполагающих факторов и сопутствующих заболеваний. Так, по показаниям, пациентам может быть назначена противовоспалительная, муколитическая, ингаляционная терапия, витаминные и ферментные комплексы, препараты, улучшающие метаболические процессы и микроциркуляцию, физиолечение и фонопедия. Помимо этого, пациентам с ХГЛ показано гистологическое исследование. Однако следует учитывать, что выполнение хирургического лечения или биопсии гортани во время обострения воспалительного процесса может приводить к ложным и неудовлетворительным результатам, клиническим ошибкам, стойкой утрате голосовой функции. [1, 3, 4]

Одним из перспективных методов лечения, согласно данным литературы, можно считать фотодинамическую терапию (ФДТ), которая активно применяется в лечении опухолевых заболеваний с начала XX века. Накопленный опыт в лечении опухолей способствовал развитию отдельного направления - антимикробной ФДТ (аФДТ). Антибактериальный эффект ФДТ основан на физикохимической реакции, возникающей при воздействии световой энергии на фотосенсибилизатор (ФС) в присутствии кислорода, в результате чего происходит выделение синглетного кислорода и свободных радикалов, которые являются цитотоксическими для

большинства биологических объектов, вызывая гибель микроорганизмов. [5, 6, 7] За последние 15 лет были проведены экспериментальные и клинические исследования, доказавшие антибактериальную и противогрибковую эффективность аФДТ, в том числе в лечении заболеваний ЛОР-органов. Таким образом аФДТ рассматривается как перспективный дополнительный способ лечения пациентов с обострением ХГЛ. [6, 8, 9]

Цель исследования. Повысить эффективность лечения пациентов с обострением ХГЛ с использованием метода эндоларингеальной аФДТ.

Материал и методы. В исследование включили 36 пациентов с обострением ХГЛ (26 - с диффузной формой, 10 – с ограниченной), в том числе в 9 случаях – с кератозом голосовых складок.

Всем пациентом проводили сбор жалоб и анамнеза, осмотр ЛОР-органов, клинико-лабораторное обследование, микробиологическое исследование со слизистой оболочки гортани и комплексную оценку клинико-функционального состояния гортани с применением видеоларингоскопии, аутофлюоресцентной и узкоспектральной ларингоскопии, видеоларингостробоскопии.

У всех пациентов имелось патологическое отделяемое или налеты на слизистой оболочке гортани, воспалительные явления были разной степени выраженности в виде гиперемии, отека, инфильтрации слизистой оболочки, в 9 случаях выявлены участки кератоза на голосовых складках. Изменения вибраторного цикла при видеоларингостробоскопии выявлены у 30 пациентов, которые в основном были представлены снижением амплитуды и регулярности колебаний голосовых складок, а у пациентов с явлениями кератоза голосовых складок выявлено отсутствие вертикального компонента и смещения слизистой волны в этих участках.

Микробиота гортани у пациентов была представлена бактериальными и грибковыми возбудителями в диагностически значимом титре, представленными на рисунке 1.

Рисунок 1. Выявленная микробиота гортани (n=36)

После установления диагноза всем пациентам был проведен курс консервативной комплексной терапии в течение 21 дня: системная антибактериальная или противогрибковая

(согласно полученным результатам микробиологического исследования), ингаляционная (щелочные ингаляции и ингаляции с антисептиками и глюкокортикостероидами), муколитическая, ферментная, антирефлюксная и симптоматическая. На фоне проведенного лечения не удалось достигнуть ремиссии воспалительного процесса в гортани, а повторные микробиологические исследования показали сохранение выявленной ранее микробной и грибковой флоры в значимом титре.

В связи с неэффективностью проведенного курса лечения эти 36 пациентов были включены в исследование и далее им провели курс эндоларингеальной аФДТ по следующей методике. Сначала проводили эндоларингеальное вливание в гортань 2 мл ФС - 0,01% водного раствора метиленового синего под контролем непрямой микроларингоскопии. Затем, после 10-минутной экспозиции ФС, выполняли аппликационную анестезию слизистой оболочки глотки раствором Лидокаина 10% и облучение слизистой оболочки гортани под контролем фиброларингоскопии лазером с длиной волны 660нм±5нм в непрерывном режиме. Мощность лазерного излучения увеличивали постепенно от 0,2 до 0,6 Вт от первого сеанса к последнему, плотность мощности - 0,1-0,3 Вт/м2. Облучение проводили в течение 120 с световодом диффузионного типа с микролинзой на торце, проведенным через рабочий канал фиброларингоскопа. [10] Сеансы эндоларингеальной аФДТ и осмотр пациентов проводили каждые 2-3 дня, а микробиологические исследования в динамике – на 7, 14 и 21 сутки. Лечение дополняли ежедневными щелочными ингаляциями с дегазированной минеральной водой и, при наличии показаний, муколитической, ферментной, антирефлюксной и симптоматической терапией.

Показателями выздоровления мы считали отсутствие жалоб, нормализацию или стойкое улучшение ларингоскопической картины, стихание воспалительных явлений, очищение слизистой оболочки от патологического отделяемого и налетов, нормализацию вибраторного цикла голосовых складок и отрицательные результаты повторных микробиологических исследований.

Результаты. В процессе лечения на 7 сутки у 16 пациентов (44%) при микроларингоскопии мы отметили уменьшение воспалительных явлений в гортани в виде исчезновения или значительного уменьшения гиперемии, отека и инфильтрации слизистой оболочки, у 15 пациентов (42%) - отсутствие патологического отделяемого, у 12 (33%) - улучшение видеоларингостробоскопической картины, при этом у 11 пациентов (30,5%) уже на 7 сутки результаты повторных микробиологических исследований были отрицательными.

На 14 сутки воспалительные явления регрессировали у 27 пациентов (75%) , слизистая оболочка гортани очистилась от патологического отделяемого и нормализовался вибраторный

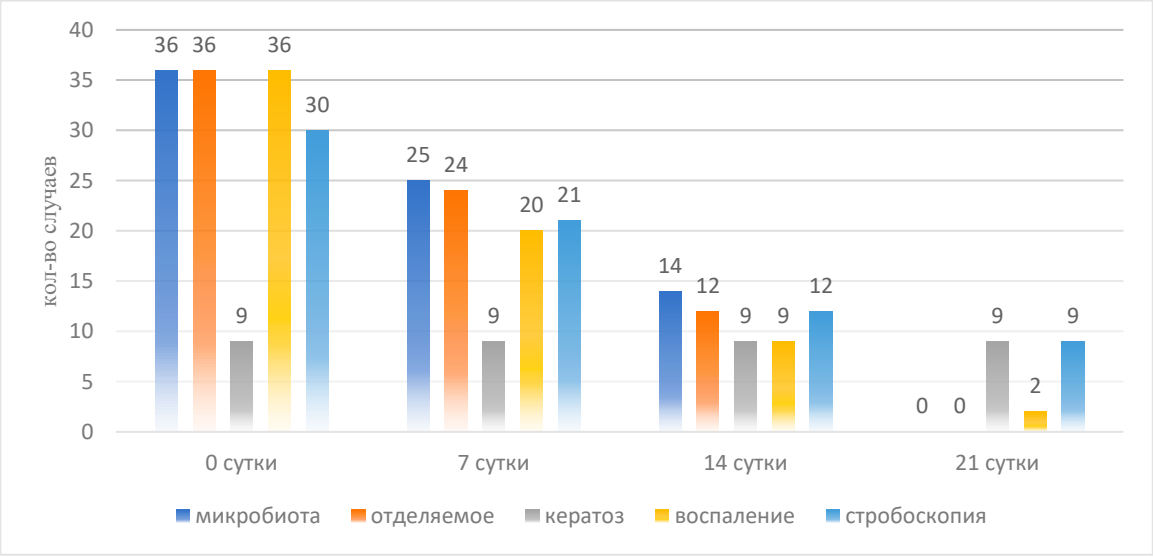
цикл у 24 пациентов (67%), повторные микробиологические исследования были отрицательными у 22 пациентов (61%).

На 21 сутки отмечено очищение слизистой оболочки гортани от патологического отделяемого и налетов, а также нормализации микробиоты гортани у всех 36 пациентов, при этом у 2 пациентов при микроларингоскопии сохранялись слабые воспалительные явления в виде гиперемии и участков инфильтрации слизистой оболочки и у 9 – изменения видеоларингостробоскопической картины.

Что касается явлений кератоза голосовых складок, которые мы выявили в 9 случаях (у 2 - с диффузной и 7 - с ограниченной формами ХГЛ), то они оставались неизменными у этих пациентов на протяжении всего курса лечения, независимо от положительной динамики в отношении воспалительных явлений.

Динамика изменения оцениваемых показателей (воспалительные явления, патологическое отделяемое и налеты, результаты микробиологических исследований, показатели ларингостробоскопии, явления кератоза) представлена на рисунке 2.

Рисунок 2. Изменение показателей состояния гортани в ходе лечения (n=36)



Таким образом по окончании проведенного лечения мы отметили хороший результат у 24 пациентов с диффузной и у 3 пациентов с ограниченной формами ХГЛ, который заключался в достижении ремиссии воспалительного процесса в гортани, нормализации видеоларингостробоскопической картины. Очищения слизистой оболочки от патологического отделяемого и налетов и эрадикации выявленной ранее бактериальной или грибковой флоры по результатам контрольных микробиологических исследований удалось добиться у всех 36 пациентов. У 9 пациентов с явлениями кератоза голосовых складок регресс воспалительных явлений выявлен в 7 случаях и значительное уменьшение воспалительный явлений - в 2 случаях, тогда как очаги кератоза никак не изменились и сохранялись выявленные ранее изменения

вибраторного цикла. Эти пациенты были направлены на хирургическое лечение – им выполнено удаление измененных участков слизистой оболочки голосовых складок и участков кератоза с последующим гистологическим исследованием.

Заключение. Использование метода эндоларингеальной аФДТ повышает эффективность лечения пациентов с обострением ХГЛ и позволяет достигнуть ремиссии воспалительного процесса и санации слизистой оболочки гортани даже при отсутствии эффекта от проведенного ранее стандартного курса консервативной терапии. Лечение с применением данной методики наиболее эффективно у пациентов с диффузной формой ХГЛ. При ограниченной форме заболевания и наличии очагов кератоза на голосовых складках положительный эффект от данного лечения менее выражен, однако уменьшение воспалительных явлений и очищение слизистой оболочки гортани от патологического отделяемого позволяют подготовить пациентов к последующему хирургическому лечению.

ЛИТЕРАТУРА /REFERENCES

1. Оториноларингология: национальное руководство / под ред. В. Т. Пальчуна. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 1024 с.
2. Микробиота гортани при хроническом гиперпластическом ларингите / В. Я. Кунельская, Н. Л. Кунельская, С. Г. Романенко [и др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2022. – Т. 24, № 2. – С. 92.
3. Терапия воспалительных заболеваний гортани / А. И. Крюков, Н. Л. Кунельская, С. Г. Романенко [и др.] // Медицинский совет. – 2013. – № 2-1. – С. 38-41.
4. Хронический гиперпластический ларингит у профессионалов голоса / Ю. Е. Степанова, О. И. Коноплев, Т. В. Готовяхина [и др.] // Российская оториноларингология. – 2020. – Т. 19, № 3(106). – С. 31-36. – DOI 10.18692/1810-4800-2020-3-31-36.
5. Фотодинамическая терапия заболеваний головы и шеи / Под ред. И.В. Решетова и В.И. Егорова. — М.: АО «Первая Образцовая типография», 2022. — 272с.; ил.
6. Перспективы применения антимикробной фотодинамической терапии в оториноларингологии / А. С. Лапченко, А. И. Крюков, А. В. Гуров, Р. Я. Ордер // Вестник оториноларингологии. – 2019. – Т. 84, № 6. – С. 73-76. – DOI 10.17116/otorino20198406173.
7. Dias LM, Ferrisse TM, Medeiros KS, Cilli EM, Pavarina AC. Use of Photodynamic Therapy Associated with Antimicrobial Peptides for Bacterial Control: A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci. 2022 Mar 17;23(6):3226. doi: 10.3390/ijms23063226.
8. Экспериментальное обоснование применения новых методик при терапии грибковых аденоидитов у детей / А. И. Крюков, А. Ю. Ивойлов, В. Я. Кунельская [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2014. – № 4. – С. 49-51.

9. Фотодинамическая терапия в лечении ларингомикоза / В. Я. Кунельская, Н. Л. Кунельская, Е. А. Кирасирова [и др.] // Российская оториноларингология. – 2019. – Т. 18, № 1(98). – С. 70-75. – DOI 10.18692/1810-4800-2019-1-70-75.

10. Патент на изобретение RU 2 806 971 C1 «Способ лечения хронического гиперпластического ларингита с применением сеансов фотодинамической терапии». Авторы: Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Романенко С.Г., Павлихин О.Г., Елисеев О.В., Лесогорова Е.В., Курбанова Д.И., Красильникова Е.Н., Сафьянникова Е.А., Шадрин Г.Б.

Контактная информация

Романенко С.Г. – к.м.н., заведующий научно – исследовательским отделом микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.
Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)542-4896, s_romanenko@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-8202-5505

Курбанова Д.И. – к.м.н., старший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.
Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)509-8438, doctor_diana@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3571-8851

Лесогорова Е.В. – к.м.н., старший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.
Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(903)548-3244, katenan1@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-1753-5960

Красильникова Е.Н. - младший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.
Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)318-8978, fil_kate@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8675-078X

Сафьянникова Е.А. – аспирант научно-исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.
Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)493-7636, zh.saffi@inbox.ru, https://orcid.org/0009-0005-7780-6488

Автор, ответственный за переписку: Курбанова Диана Игоревна – e-mail: doctor_diana@mail.ru

АНАЛИЗ 2252 СЛУЧАЕВ ОДНОСТОРОННЕГО ПАРАЛИЧА ГОРТАНИ. ВОЗМОЖНОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ГОЛОСА

С.Г. Романенко, Е.В. Лесогорова, Д.И. Курбанова, Е.Н. Красильникова, Е.А. Сафьянникова

ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ (директор - член-корр. РАН, Засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. А.И. Крюков), г. Москва, Российская Федерация, 117152

Атуальность. Паралич гортани является одним из наиболее частых заболеваний в области ларингологии и составляет 29,9% от всей хронической патологии гортани. Нарушения иннервации гортани до 6 месяцев от момента возникновения считают обратимыми и устанавливают диагноз пареза, свыше 6 месяцев констатируют паралич гортани [1,2]. Заболевание является полиэтиологичным, что во многом зависит от сложного строения нервно-мышечного аппарата гортани [3,4,5,6]. В этиологии периферического паралича гортани имеют значение такие особенности как - большая протяженность нервных стволов; несимметричность правого и левого возвратных нервов; анатомическая близость гортанных нервов и разнообразие их топографических взаимоотношений с анатомическими структурами шеи и грудной полости; большое количество пассивных движений в перстнечерпаловидном суставе, относительная слабость его суставной сумки. В клинике паралича гортани имеют место нарушения всех функций гортани разной степени тяжести – дыхательной, голосообразующей и защитной. Выраженность клинических проявлений зависит от положения парализованной голосовой складки в горизонтальной и вертикальной плоскости, состояния тонуса мышц, наличия процессов атрофии. Стойкое нарушение функций гортани при одностороннем параличе нарушает трудоспособность лиц голосо-речевых профессий, приводит к нарушению коммуникации, а в ряде случаев - к жизнеугрожающим состояниям и инвалидизации [1,3,7].

Цель исследования: изучить эпидемиологические особенности одностороннего паралича гортани (ОПГ) и возможности восстановления голоса при этой патологии.

Материалы и методы. Обобщены данные по анализу выявленных случаев ОПГ за 2018 - 2022гг. Проведен анализ амбулаторных карт пациентов и записей компьютерной информационной базы ГБУЗ НИКИО им Л.И.Свержевского ДЗМ. За исследуемый период пациенты с ОПГ составили 10,4% (n=2252) от всех принятых амбулаторно пациентов фониатрического профиля. Были проанализированы следующие данные больных: пол, возраст, этиология и давность заболевания, особенности клинико-функционального состояния гортани, а также результатам лечения, в том числе - у фонопеда.

Результаты. Среди обследованных пациентов женщины составили 68,5% (n=1543), мужчины - 31,5% (n=709), возраст - от 24 лет до 97 лет, средний возраст женщин - 64,3±6,4 года, мужчин - 66,3±7,5 лет.

Анализ этиологических факторов ОПГ выявил высокую распространенность ятрогенного ОПГ – в следствии интраоперационной травмы (71%, n=878). При этом повреждающие нерв факторы могут быть следующие: сдавление и растяжение хирургическим инструментом, отек, гематома, электротермическое воздействие, перевязка лигатурой, пересечение скальпелем, вовлечение в воспалительный или рубцовый процесс. В зависимости от повреждающего нерв фактора поражение гортанного нерва в ходе операции может быть различной степени тяжести: без повреждения аксона и миелиновой оболочки (нейпропраксия), с повреждением аксона и сохранностью миелиновой оболочки (аксонотмезис), полный перерыв нерва как аксона, так и миелоновой оболочки (нейротмезис). По нашему опыту и данным литературы эти факторы влияют на возможность и сроки восстановления подвижности гортани [8]. Однако, точно определить характер повреждающего нерв фактора чаще всего не представляется возможным.

Среди интраоперационной травмы лидировали операции на щитовидной паращитовидных железах - 39% (n=878), в том числе по поводу рака щитовидной железы у 180 пациентов; операции на сосудах шеи (преимущественно - каротидная эндартерэктомия) составили 12% (n=270); операции на легком, во всех случаях по поводу рака - 5% (n=113); протезирование крупных сосудов - 2% (n=45) (39 - протезирование аорты, 6 - протезирование подключичной артерии); различные хирургические вмешательства на органах грудной клетки и шее - 13% (n=293) (74 - на сердце, 61 – на пищеводе, 52 - на шейном отделе позвоночника, 43 - на блуждающем нерве, 33 - удаление хемодектом шеи, 20 - удаление паратрахеальной кисты, 10 - флегмона шеи). У 36 больных (1,6%) причиной ОПГ были травмы шеи и головы (наружные травмы шеи - у 27, закрытая черепно-мозговая травма – у 9), у 0,4% больных ОПГ возник на фоне ОНМК (n=4), после удаления опухоли головного мозга (n=3), на фоне менингита (n=2).

27% (n=608) пациентов отрицали получение травмы, наличие опухолевой патологии, хирургические вмешательства на органах шеи и грудной клетки, ОНМК и другие органические причины паралича гортани.

Для установления этиологии ОПГ всем пациентам было проведено комплексное обследование по следующему алгоритму: КТ органов шеи (оценивали гортань, трахею, пищевод, щитовидную железу, мягкие ткани); КТ органов грудной клетки и средостения; МРЬ головного мозга при наличии неврологической симптоматики или при подозрении на паралич центрального генеза (по согласованию с неврологом) [9,10]. По показаниям привлекали специалистов смежных профилей – эндокринолога, пульмонолога, хирурга, онколога. В случае наличия у пациента

онкологического заболевания в анамнезе, развитие клиники ОПГ может указывать на прогрессирование, метастазирование основного заболевания, что требует тщательного обследование у онколога. В том случае, если этиология паралича не была установлена после комплексного обследования пациента, данные методы исследования повторяли через 6 месяцев.

В ходе обследования у 236 из 608 пациентов выявлены вероятные причины ОПГ: новообразование щитовидной железы, новообразование левого легкого, аневризма аорты, боковой амиотрофический склероз, количественная лимфаденопатия средостения и шеи, новообразование средостения, метастазы в грудные лимфоузлы, ревматизм с анкилозом перстнечерпаловидного сустава, сдавление пищевода остеофитами, синдром Колле-Сикара.

В итоге, у 16,5% (n=372) пациентов с ОПГ по результатам комплексного обследования, причин паралича гортани выявлено не было, пациентам установлен диагноз "Паралич гортани неясной этиологии".

Длительность заболевания у 40% (n=906) обратившихся больных составила менее 6 месяцев, у 33% (n = 737) - от 6 до 12 месяцев, у 27% (n=609) - более 1 года. Таким образом, 60% больных ОПГ обратились в сроки, когда нарушения иннервации гортани считаются необратимыми, а шансы на восстановление подвижности гортани крайне низкими. Пациентов ориентируют на выжидательную тактику, в связи с чем значительно ухудшается прогноз лечения.

При оценке клинико-функционального состояния гортани выявлено, что у большинства пациентов парализованная голосовая складка занимала парамедианное положение (59%, n = 1328), реже встречалось медианное положение (19%, n=428) обратившихся, латеральное положение (15%, n=338), интермедианное (7%, n=158). У 78% (n=1757) обратившихся пациентов диагностировали ротацию парализованного черпаловидного хряща кнутри; у 53% (n=1194) (преимущественно у больных с длительностью заболевания более 3 месяцев и имеющих повышенные голосовые нагрузки) - компенсаторное участие вестибулярного отдела гортани в фонации.

Всем пациентам был назначен курс фармакотерапии и физиотерапии с учетом противопоказаний, обусловленных этиологией паралича и сопутствующей патологией. 53% (n= 1202) пациентов в связи с неудовлетворительным качеством голоса дополнительно были направлены на фонопедию, однако, более 3 фонопедических занятий посетил только 601 пациент (27%). Контрольные осмотры проводили в сроки от 2 до 6 месяцев. На фоне комплексного лечения с фонопедией восстановление подвижности гортани отметили у 33,5% (n=201) пациентов, улучшение голоса при сохранении паралича - у 60,5% (n= 364) и отсутствие эффекта

- у 6% (n=36) больных. Все пациенты с неудовлетворительными результатами лечения имели латеральное положение голосовой складки и ротированный кнутри парализованный черпаловидный хрящ, из них 11 пациентам проведена имплантация аутожира в парализованную голосовую складку с положительным эффектом.

В группе пациентов, которым фонопедию не проводили (47%, n=1050), в течение 6 месяцев оценить результаты лечения удалось у 700 человек. Восстановление подвижности отметили 14% (n=98) больных, улучшение голоса при сохранении ОПГ - 58% (n=406) и отсутствие эффекта - 28% (n=196) пациентов. Случаев восстановления подвижности гортани у пациентов с длительностью заболевания более 6 месяцев не наблюдали, однако проведенное лечение значительно улучшало клинико-функциональное состояние гортани и качество голоса пациентов.

Заключение. ОПГ является полиэтиологичным заболеванием, может быть, как проявлением патологии самой гортани, так и быть симптомом поражения органов грудной клетки, шеи, головного мозга и других систем. Проведенный анализ показал высокую распространенность паралича ятрогенного генеза (69%) - последствия операций на щитовидной и паращитовидных железах (39%), на сосудах шеи (12%), на легком (5%), других операций на органах грудной клетки и шеи (13%), а также отмечена высокая распространенность ОПГ неясной этиологии в 16,5%. Все случаи выявленного ОПГ неясной этиологии требуют тщательного комплексного дообследования пациентов с привлечением специалистов смежных областей. Большинство больных ОПГ (60%) обратились за помощь с длительностью заболевания более 6 месяцев, случаев восстановления подвижности гортани у них не наблюдали. Из этого следует, что выжидательная тактика при выявлении ОПГ является неприемлемой. Наиболее эффективной и предпочтительной у пациентов с ОПГ является проведение комплексного лечения с фонопедией в максимально ранние сроки начала заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оториноларингологоия: национальное руководство / под ред. Пальчуна. - 2-е изд. перераб. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. - С. 760–766.
2. Дайхес Н.А. , Кокорина В.Э., Нажмудинов И.И., Гусейнов И.Г., Хорук С.М., Савенок А.В. Парезы и параличи гортани/ Клинические рекомендации. Минздрав РФ, 2016. - 6 с.
3. Василенко Ю.С. Голос. Фониатрические аспекты /М., 2013, С. 197-211.
4. Benninger M.S., Gillen J.B., Altman J.S. Changing etiology of vocal fold immobility. The Laryngoscope. 1998; 108(9):p. 1346-1350.
5. Cantarella G. et all. A retrospective evaluation of the etiology of unilateral vocal fold paralysis over the last 25 years. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology, 2017274(1), 347-353. https://doi.org/10.1007/s00405-016-4225-9
6. G. Cantarella , P. Dejonckere, A. Galli, A. Ciabatta, M. Gaffuri, L. Pignataro , S. Torretta, Single institutional analysis of trends over 45 years in etiology of vocal fold paralysis. Auris Nasus Larynx. 2012 Dec;39(6):597-600. PMID: 22398216 doi: 10.1016/j.anl.2012.02.001.

7. Романенко С.Г. Клинико-функциональное состояние гортани и комплексное лечение больных с односторонним параличом гортани: автореф. дис. канд. мед.наук : спец. 14.00.04 / Моск. НИИ уха, горла и носа. М., 2000. - 21 с.
8. Одинак М.М., Живолупов С.А. Заболевания и травмы периферической нервной системы. / СПб.: Спец.Лит., 2009. -367с.
9. Романенко С.Г. Клиническое обследование пациентов с односторонним параличом гортани неясного генеза. Вестник оториноларингологии. 2009. № 5. С. 283.
10. Степанова Ю.Е., Готовяхина Т.В. Алгоритм обследования пациентов с односторонним парезом гортани неясной этиологии в практике врача-оториноларинголога. / Consilium Medicum.,2017г; 19.С. 37-40

Контактная информация

Романенко С.Г. – к.м.н., заведующий научно – исследовательским отделом микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.

Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)542-4896, s_romanenko@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-8202-5505

Лесогорова Е.В. – к.м.н., старший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.

Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(903)548-3244, katenan1@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-1753-5960

Курбанова Д.И. – к.м.н., старший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.

Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)509-8438, doctor_diana@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3571-8851

Красильникова Е.Н. - младший научный сотрудник научно – исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.

Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)318-8978, fil_kate@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8675-078X

Сафьянникова Е.А. – аспирант научно-исследовательского отдела микрохирургии гортани и фониатрии ГБУЗ НИКИО им. Л.И. Свержевского ДЗМ.

Адрес: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18а, стр.2, +7(916)493-7636, zh.saffi@inbox.ru, https://orcid.org/0009-0005-7780-6488

Автор, ответственный за переписку:

Лесогорова Екатерина Владимировна - e-mail: katenan1@rambler.ru

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ГОЛОСА У ПАЦИЕНТОВ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ГОРТАНИ В СОЧЕТАНИИ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИСФОНИЕЙ

С.Г. Романенко, Е.А. Сафьянникова*

ГБУЗ «НИКИО им. Л.И. Свержевского» ДЗМ

*e-*mail*: zh.saffi@inbox.ru

Введение. Дисфонии делятся на две большие группы: органические, для которых характерно наличие анатомического дефекта структур гортани, и функциональные, для которых наличие такого дефекта не характерно. [1, 2, 3] На практике провести между ними четкую черту достаточно трудно: органические и функциональные нарушения могут сочетаться у одного и того же пациента, при этом находясь в тесной патогенетической связи между собой и с перенапряжением голоса. [2, 4, 5, 6] Сопровождающее голосовые нарушения перенапряжение ларингеальных мышц, может быть как средством компенсации голосовой недостаточности, так и причинным фактором заболеваний гортани, приводя к пересмыканию голосовых складок и развитию органической патологии вследствие травматизации слизистой оболочки. [7] Травмирующие вокальные привычки, такие как твердая атака, крик, большие голосовые нагрузки или разговор в шумной обстановке относятся к формам перенапряжения голоса и могут быть причиной хронической фонотравмы. [3, 8, 9, 10] Кроме этого, такую форсированную манеру голосоведения могут провоцировать расстройства эмоциональной сферы тревожного характера, стрессовое расстройство, состояние психоэмоционального перенапряжения. [9, 11] Нарушение голоса может быть проявлением тревоги, депрессии, расстройства личности, соматизации, конверсионной реакции. [12] Психическая реакция на нарушение голоса может вызывать функциональное расстройство, влияющее на качество голоса более значительно, чем исходная органическая патология. [5]

Для реабилитации голоса важно иметь в виду, что нормальный процесс фонации основан на тесном взаимодействии дыхательной, нервной и мышечной систем. Наиболее благоприятным типом дыхания для работы голосового аппарата является нижнереберный тип, т. к. степень участия в этом процессе диафрагмы максимальна, благодаря чему происходит экономия мышечной силы, а также достигается наибольший объем вдыхаемого воздуха. [1, 2] Соответственно, голосовая реабилитация при всех типах дисфоний включает формирование нижнереберного типа дыхания. [2]

Учитывая взаимное влияние эмоциональной и психической сферы, вокальных привычек, перенапряжения голоса, анатомо-физиологического состояния гортани,

очевидно, что для восстановления голосовой функции пациентам с доброкачественной органической патологией гортани в сочетании с функциональной дисфонией необходимо проведение психокоррекционной работы, дыхательной гимнастики, формирование правильного механизма фонации, коррекция мышечного напряжения, активация диафрагмы и межреберных мышц, при необходимости – хирургическое лечение. [2, 13] С этой точки зрения перспективной кажется методика терапии, основанная на биологической обратной связи (БОС). Механизм БОС-терапии состоит в считывании с помощью специальных датчиков некоторых параметров организма пациента (ЧДД, ЧСС, уровня мышечного напряжения, периферической температуры тела и т. д.), а затем в возврате этих данных пациенту на экран для коррекции показателей в необходимую для терапии нарушения сторону. Данный механизм позволяет пациенту сформировать навыки направленной саморегуляции, в результате чего корректируется не только симптоматика, но и причинный фактор функциональных нарушений. [14]

Исследования, посвященные коррекции дисфоний с помощью метода БОС, многообразны: авторы использовали визуальную обратную связь, электромиографию, слухо-перцептивную обратную связь. Моделируемыми показателями были следующие: легочный объем, уровень мышечного напряжения, форма голосовой щели, кривые поток-объем и др. Оценивая данные литературы, становится ясно, что различные подходы с использованием БОС могут быть эффективными инструментами восстановления голоса при дисфониях различного генеза. [15-21]

Цель исследования. Повысить эффективность восстановления голосовой функции у пациентов с доброкачественной органической патологией гортани в сочетании с функциональной дисфонией.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 252 пациента в возрасте 19-76 лет (ж — 143, м — 109), оперированные в НИКИО им. Л.И. Свержевского по поводу доброкачественных органических заболеваний голосовых складок. Всем пациентам в послеоперационном периоде было выполнено комплексное исследование клинико-функционального состояния гортани, включающее видеоларингоскопию, видеоларингостробоскопию, измерение времени максимапльной фонации (ВМФ), субъективную оценку голосовой функции врачом (по Yanagihara) и пациентом (по опроснику VHI-30), а также комбинированный диагностический сеанс, включающий мониторинг пульсограммы и кривой дыхания.

При видеоларингоскопии у ряда пациентов были выявлены признаки функционального компонента дисфонии: гипо-, гипертонусный или узелковый (формирование при фонации щели в виде восьмерки) тип фонации. Этим пациентам в послеоперационном периоде

проводили дополнительные мероприятия для реабилитации голосовой функции: фонопедические занятия и сеансы БОС-терапии. Фонопедические занятия включали в себя дыхательную гимнастику по методике Э.Я. Золотаревой и голосовые упражнения, подобранные в соответствии с типом выявленного функционального компонента. Фонопедические занятия проводились 2-3 раза в неделю (исходя из возможностей пациента) в течение 1 месяца. Курс БОС-терапии включал тренинг биоуправления с использованием визуальной и аудиальной поддержки программы «КомфортЛОГО» с целью формирования навыка диафрагмального дыхания, уменьшения психо-эмоционального и мышечного напряжения. Тренинги проводились 2-3 раза в неделю в течение 1 месяца. Также пациенты ежедневно выполняли упражнения самостоятельно. После завершения курса пациентам был проведен контрольный диагностический сеанс и оценка клинико-функционального состояния гортани. Все пациенты осматривались еженедельно в течение 1 месяца после операции.

Результаты и обсуждения. К 28 суткам острый послеоперационный ларингит был купирован у всех пациентов, однако в некоторых случаях (n=26, 10,3%) это не привело к восстановлению звучного голоса. При проведении видеоларингоскопии у этих пациентов были обнаружены признаки функционального компонента дисфонии: узелковая фонация - у 12, гипертонусный тип фонации — у 6, гипотонусная дисфония — у 6, гипо-гипертонусный тип фонации — у 2 пациентов. Было также отмечено, что у пациентов с признаками функционального компонента клиника послеоперационного ларингита в среднем была купирована позже, чем у пациентов без признаков функционального компонента.

После обследования пациенты с признаками функционального компонента были разделены на две однородные группы (А и Б): в каждой группе было по 6 пациентов с узелковым типом фонации, по 3 - с гипотонусной дисфонией, по 3 - с гипертонусным типом фонации. Пациенты с гипо-гипертонусным типом фонации были исключены из исследования. Группе А (n=12) проводили стандартные фонопедические занятия, группе Б (n=12) — фонопедические занятия и сеансы БОС-терапии.

Комплексное исследование акустических показателей голоса до начала терапии демонстрировало значительное отклонение от нормы ВМФ и показателей нестабильности по частоте и амплитуде в краткосрочном периоде (Jitt%, Shim%) у всех пациентов с признаками функционального компонента (таблица 1). При слуховой оценке голоса врачом выраженность охриплости оценивалась преимущественно как 2-3 степень. При анкетировании по опроснику VHI-30 пациенты оценили свой голос в среднем на 33,1±17,4, что соответствует средней степени нарушения голосовой функции. В процессе первичного диагностического сеанса у всех пациентов было выявлено повышение пульса (95±15,7).

Синусоида пульсограммы у 16 пациентов отсутствовала, а у 8 была неравномерной и низкой амплитуды, кривая дыхания не соответствовала пульсограмме. Показатель респираторно-синусной аритмии у всех пациентов в среднем равнялся 42±13,5 уд./мин (норма — 15-20 уд/мин), определялось неравномерное дыхание с преобладанием вдоха над выдохом. Все эти показатели свидетельствовали о неудовлетворительном качестве фонационного дыхания пациентов.

После 1 месяца терапии на контрольном диагностическом сеансе было установлено, что пациенты обеих групп научились снижать повышенное значение ЧСС (хотя достигнуть нормальных значений ЧСС удалось только 10 пациентам, и все они относились к группе Б), а также у 18 пациентов было установлено появление синусоиды пульсограммы, синхронной с кривой дыхания (из них 10 пациентов также относились к группе Б). Охриплость при оценке по шкале Yanagihara уменьшилась до 1-2 степени выраженности. Субъективно пациентами обеих групп было отмечено улучшение качества голоса, а также уменьшения чувства напряженности при фонации. Эндоскопическое исследование показало уменьшение участия вестибулярных складок в процессе фонации у пациентов с признаками гипертонуса, улучшение показателей вибраторного цикла. Показатели акустического анализа голоса также улучшились, причем по ряду показателей (Jitt%, Shim%, ВМФ) пациенты группы Б показали лучшие результаты по сравнению с группой А. Показатели акустического анализа голоса, а также данные субъективной оценки голоса пациентом по опроснику VHI-30 у пациентов групп А и Б представлены в таблице 1.

Таблица 1

Оценка клинико-функционального состояния пациентов групп А и Б до и после проведения терапии

		До терапии	**После 1 месяца терапии**	
			А (Ф)	**Б (Ф+Б)**
Jitt%	До 1,040%	1,62±0,754	1,56±0,72	1,48±0,8
Shim%	До 3,810%	4,76±1,954	4,68±0,9	4,52±0,85
NHR	До 0,190	0,171±0,06	0,11±0,03	0,11±0,033
VTI	До 0,06	0,051±0,008	0,05±0,02	0,05±0,016
ВМФ	Ж: 17,4+2,9 сек М: 30,4+3,3 сек	10,6±3,6	13,8±5,9	14,5±3,1
VHI		33,1±17,4	26,3±10,6	21,1±10,4

Таким образом, в ходе нашего исследования было установлено, что некоторым пациентам (10,3%) успешно выполненное оперативное вмешательство на голосовых складках не гарантирует восстановление звучного голоса. У этих пациентов сохранялась

охриплость и после купирования признаков послеоперационного ларингита. Мы объясняем это наличием функционального компонента дисфонии. Восстановление голоса у таких пациентов является сложной многофакторной проблемой. Процесс реабилитации часто подразумевает не только тщательное послеоперационное наблюдение и лечение послеоперационного ларингита, но и формирование правильного механизма фонации, диафрагмального дыхания, уменьшение мышечного напряжения, устранение травмирующих вокальных привычек, психокоррекцию, что достигается в процессе совместной работы оториноларинголога, фонопеда, с использованием БОС терапии.

Выводы

1. При сочетании органического и функционального компонентов дисфонии лечение пациентов должно быть комплексным и включать не только хирургическое вмешательство, но и дополнительные методы реабилитации голосовой функции.

2. Важно своевременно диагностировать функциональный компонент органической дисфонии, т.к. его наличие увеличивает продолжительность течения послеоперационного ларингита.

3. БОС-терапия в сочетании с фонопедическими занятиями дает лучший результат в реабилитации голосовой функции у пациентов с функциональным компонентом органической дисфонии по сравнению с монотерапией фонопедией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко Ю.С. Голос. Фониатрические аспекты. Москва: Дипак, 2013.
2. Лаврова Е.В., Коптева О.Д., Уклонская Д.В. Нарушения голоса. Москва: Издательский центр «Академия», 2006
3. Остроумова О.Д., Ших Е.В., Свистушкин В.М., Реброва Е.В., Рязанова А.Ю., Ракунова Е.Б. Лекарственно-индуцированная дисфония. Вестник оториноларингологии. 2020;85(6):71-77
4. Максимов И. Фониатрия. Москва: Издательство «Медицина», 1987.
5. Вильсон Д.К. Нарушения голоса у детей. Москва: Медицина, 1990.
6. Старостина С.В., Свистушкин В.М., Ракунова Е.Б. Послеоперационная реабилитация голоса у пациентов с доброкачественными и опухолеподобными заболеваниями гортани по данным акустического анализа. Медицинский совет. 2019; 8: 122-126.
7. Hsiung MW, Hsiao YC. The characteristic features of muscle tension dysphonia before and after surgery in benign lesions of the vocal fold. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2004;66(5):246-54. https://doi: 10.1159/000081121.
8. Степанова Ю.Е., Готовяхина Т.В., Корнеенков А.А., Корень Е.Е. Комплексное лечение дисфоний у лиц голосоречевых профессий. Вестник оториноларингологии. 2017;82(3):48-53.

9. Кунельская Н.Л., Романенко С.Г., Павлихин О.Г., Лесогорова Е.В., Яковлев В.С., Лучшева Ю.В. Этиопатогенетическое лечение узелков голосовых складок у профессиональных вокалистов. Вестник оториноларингологии. 2019;84(2):13-17.
10. Andrade DF, Heuer R, Hockstein NE, Castro E, Spiegel JR, Sataloff RT. The frequency of hard glottal attacks in patients with muscle tension dysphonia, unilateral benign masses and bilateral benign masses. J Voice. 2000 Jun;14(2):240-6. https://doi: 10.1016/s0892-1997(00)80032-6
11. Arnold G.E. Vocal nodules and polyps: laryngeal tissue reaction to habitual hyperkinetic dysphonia. J Speech Hear Disord. 1962 Aug;27:205-17. https://doi: 10.1044/jshd.2703.205.
12. Reiter R, Rommel D, Brosch S. Long term outcome of psychogenic voice disorders. Auris Nasus Larynx. 2013 Oct;40(5):470-5. https://doi: 10.1016/j.anl.2013.01.002.
13. Ремакль М., Эккель Х.Э. Хирургия гортани и трахеи. Москва: Издательство Панфилова; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014.
14. Кунельская Н.Л., Резакова Н.В., Гудкова А.А., Гехт А.Б. Метод биологической обратной связи в клинической практике. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014;114(8):46-50.
15. Bastian RW, Nagorsky MJ. Laryngeal image biofeedback. Laryngoscope. 1987 Nov;97(11):1346-9. https://doi: 10.1288/00005537-198711000-00019.
16. D'Antonio L, Lotz W, Chait D, Netsell R. Perceptual-physiologic approach to evaluation and treatment of dysphonia. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1987 Mar-Apr;96(2 Pt 1):187-90. https://doi: 10.1177/000348948709600210.
17. Holbrook A, Rolnick MI, Bailey CW. Treatment of vocal abuse disorders using a vocal intensity controller. J Speech Hear Disord. 1974 Aug;39(3):298-303. https://doi: 10.1044/jshd.3903.298.
18. LeBlanc RA, Aalto D, Jeffery CC. Visual biofeedback for paradoxical vocal fold motion (PVFM). J Otolaryngol Head Neck Surg. 2021 Feb 18;50(1):13. https://doi: 10.1186/s40463-021-00495-0.
19. Schneider-Stickler B, Knell C, Aichstill B, Jocher W. Biofeedback on voice use in call center agents in order to prevent occupational voice disorders. J Voice. 2012 Jan;26(1):51-62. https://doi: 10.1016/j.jvoice.2010.10.001.
20. Van Lierde KM, Claeys S, De Bodt M, Van Cauwenberge P. Outcome of laryngeal and velopharyngeal biofeedback treatment in children and young adults: a pilot study. J Voice. 2004 Mar;18(1):97-106. https://doi: 10.1016/j.jvoice.2002.09.001.
21. Xu JH, Ikeda Y, Komiyama S. Bio-feedback and the yawning breath pattern in voice therapy: a clinical trial. Auris Nasus Larynx. 1991;18(1):67-77. https://doi: 10.1016/s0385-8146(12)80252-5.

ПРОБЛЕМА НЕДОСТАТОЧНОЙ ОНКОНАСТОРОЖЕННОСТИ НА АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОМ ЭТАПЕ

Д.Н. Романов*, Г.В. Романова, А.М. Тонян

Научный руководитель: асс. кафедры поликлинической терапии с курсом ОВП (семейная медицина) ФПК и ППС О.В. Свистун

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия

**e-mail*: djamkyr@yandex.ru, galina.gutovaa@gmail.com

Аннотация

Статья посвящена актуальной в данное время проблеме недостаточной выявляемости онкологических заболеваний на поликлиническом этапе, а также сниженной онкологической настороженности врачей первичного звена.

Ключевые слова: онкологическая заболеваемость, онконастороженность, злокачественные новообразования

Введение. Краснодарский край имеет высокий индекс заболеваемости злокачественными новообразованиями среди других субъектов РФ. За последние 3 года показатель онкологической заболеваемости вырос с 452,6 человек на 100 тыс. в 2018г. на 10,9% и составляет 496,2 человек на 100 тыс. населения в 2021г. и, к сожалению, имеет тенденцию к дальнейшему росту.

Цель исследования. Провести ретроспективный анализ причин поздно диагностированных случаев онкологических заболеваний на амбулаторно-поликлинический этапе.

Материалы и методы. Данное исследование проводилось на базе Поликлиник №7 и №10, а именно: документация медицинской отчетности врача онколога, медицинские карты амбулаторных больных (форма № 025/у), онко карты форм контрольного диспансерного наблюдения (№ 030—6/у) и журналы диспансерного учета (форма №030/у).

Результаты и обсуждение. В ходе анализа было выявлено 162 случая, из которых на долю ЗНО III стадии приходилось 48 человек (29,6%), а IV стадии на 114 человек (70,4%) [1]. Из них 37 человек (22,8%) не проживали на территории поликлинического участка, а 68 человек (42%) имели визуальные формы [2]. В структуре наиболее онкозапущенных случаев превалировали ЗНО легких - 44 человека (27,2%), причиной чему являлось, преимущественно,

скрытое течение заболевания. На втором месте находятся ЗНО молочной железы - 27 случаев (16,7%) и на третьем ЗНО ЖКТ- 22 человека (13,6%).

У 102 пациентов (63%) причиной явилось латентное течение заболевания, у 33 пациентов (20,4%) - несвоевременное обращение в ЛПУ, 19 человек (11,7%) отказались от лечения, а у 10 пациентов (6,2%) причина осталась неизвестной [3].

Также было проведено анкетирование 56 врачей амбулаторно-поликлинического звена с целью оценки их онконастороженности. Анкета содержала 6 блоков: клиническая картина и диагностика рака молочной железы, желудка, легких, органов полости рта, колоректального рака и меланомы [4].

Для успешного прохождения теста необходимо было набрать 70% правильных ответов. В результате было установлено, что справилось с тестом, преодолев пороговый минимум, только 26 анкетируемых врачей (46.4%), следовательно, 30 человек (53,6%) анкетируемых не справилось с заданием. Основные ошибки были допущены в разделе диагностики при первичном обследовании пациента [3,4].

Выводы. Проблема онкологической настороженности весьма остро стоит на этапе амбулаторно-поликлинического звена. Связана она, в первую очередь, с латентным течением заболеваний, запоздалым обращением в ЛПУ, отказом от лечения, а также недостаточной бдительностью врача терапевта на приеме. Данные исследования показывают необходимость расширения методик диагностики на амбулаторном этапе и включении их в план по диспансеризации населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Есауленко И.Э., Петрова Т.Н., Толбин А.А., Саурина О.С. Оптимизация системы раннего выделения онкологических заболеваний в медицинских организациях амбулаторно-поликлинического звена // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2023. Т. 31, N° 4. С. 635-642.

2. Злокачественные новообразования в России в 2022г. (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 252 с.

3. Киселев И. Л, Хвостовой В. В., Долгин В. И. и соавт. Анализ общей онкологической настороженности у медицинских работников первичного звена. Материалы Первого Международного Форума онкологии и радиологии. Москва, 23–27 сентября 2019 г. С. 143.

4. Сычёва А. С., Верткин А. Л., Кебина А. Л. Онкологическая настороженность у пациентов на амбулаторном терапевтическом этапе // Медицинский алфавит. 2021; 7: 41-45.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ РАННЕЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ КАЧЕСТВА ОРГАНИЗАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ

А.Б. Тимурзиева

ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко», ул. Воронцово Поле, 12 строение 1, Москва, 105064

Резюме

В представленной работе научно обоснована целесообразность разработки методов ранней диагностики опухолевых заболеваний для повышения качества организации онкологической помощи. На сегодняшний день онкологические заболевания приобрели широкую распространенность. Раннее их выявление способствует своевременному лечению и повышению качества организации медицинской помощи, а также снижению экономических затрат в системе здравоохранения. Соответственно, перед учеными всего мира стоит нелегкая задача поиска высокочувствительных, высокоспецифичных, точных, неинвазивных и быстрых методов ранней диагностики новообразований.

Ключевые слова: опухолевые заболевания; онкология; ранняя неинвазивная диагностика; качество организации медицинской помощи; раман-флюоресцентные медицинские технологии.

Введение и актуальность. Опухолевые заболевания являются достаточно распространенными на сегодняшний день. Поиск биомаркеров при различных новообразованиях, анализ существующих методов визуализации и специальных скрининговых тестов могут быть полезны в идентификации патологического процесса на ранней стадии [1-9], при этом важна своевременная маршрутизация пациентов в специализированные медицинские организации [10;11]. Учитывая, что часто рак обнаруживается на поздней стадии, вопросы ранней его диагностики относятся к одним из самых главных в онкологии [12; 13] и здравоохранении в целом. В частности, в диагностике новообразований интерес представляют собой такие методы, как конфокальная микроскопия, мультиспектральная визуализация, контактная эндоскопия, оптическая когерентная томография, поляриметрия, интерферометрия и использование алгоритмов машинного обучения [14;15].

В связи с изложенным выше, важен анализ существующих на сегодняшний день оптических методов, учитывая такие их характеристики, как высокая скорость, объективность, чувствительность, неинвазивность и простота использования в клинических условиях для

экспресс-диагностики в режиме реального времени. В частности, представляется возможным интерпретировать биохимические изменения, происходящие в тканях на ранней стадии заболевания в режиме реального времени. Несмотря на наличие большого количества методов, которые применяются для диагностики [16-18], актуальным остается вопрос повышения их чувствительности, скорости, точности, специфичности при различных опухолевых заболеваниях. Существует множество методов диагностики, таких как эндоскопическое исследование, фиброларингоскопия, контактная эндоскопия, NBI-эндоскопия, методы молекулярной диагностики, флуоресцентные медицинские технологии и др., которые непрерывно совершенствуются [19;20]. Аппаратно-программный комплекс может быть использован с диагностической целью в сочетании со специальным программным обеспечением [21]. С использованием оптических методов диагностики представляется возможной оценка состояния тканей при опухолевом поражении, в том числе, на фоне проводимой терапии [22]. Как мы понимаем, диагностика онкологических заболеваний должна быть эффективной, ранней и соответствовать принципу неинвазивности [23]. Сравнение диагностической точности различных инструментов (аутофлуоресценция, хемилюминесценция, цитология, узкоспектральная визуализация и др.) позволяет выбрать наиболее эффективный способ идентификации патологического процесса [24]. Одним из методов, заслуживающих внимания, является комбинационное рассеяние света, которое позволяет увидеть спектральные особенности в случае различных форм кристаллической решетки вещества, что в перспективе можно использовать в различных направлениях здравоохранения, в частности, при определении границ опухолевого поражения [25]. Поскольку ресурсы системы здравоохранения ограничены, необходимо разработать наиболее результативные методы диагностики рака, с использованием которых возможно повышение эффективности, снижение экономических затрат, повышение качества жизни пациентов [26]. Однако важно не только применять высокочувствительные методы, позволяющие идентифицировать патологический процесс на стадии его инициации, но и разрабатывать методы диагностики онкологической патологии посредством формирования междисциплинарных команд и мультидисциплинарных консилиумов с участием таких специалистов, как челюстно-лицевые хирурги, оториноларингологи, онкологи, отохирурги и нейрохирурги, фониатры и др., что поможет обеспечить пациентам полноценную реабилитацию в послеоперационном периоде [27-33]. Особого внимания заслуживает изучение возможности применения раман-флюоресцентных медицинских технологий в диагностике опухолевых заболеваний [34;35]. Рамановская спектроскопия может быть использована с целью дифференциации опухоли и интактной ткани [36; 37]. Практическая ценность метода, в данном случае, заключается в возможности определения границ резекции опухолевой ткани [38-41].

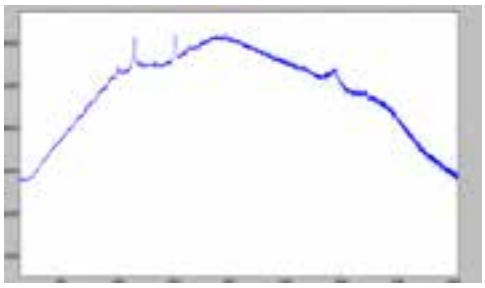
Целью данной работы является продемонстрировать необходимость разработки методов ранней диагностики опухолевых заболеваний для повышения качества организации медицинской помощи.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие пациенты с хроническим тонзиллитом (N=51; 1020 спектров) и плоскоклеточной карциномой небных миндалин (N=22; 440 спектров). Аппаратно-программный комплекс функционировал на эффектах флюоресценции, комбинационного рассеяния света и длине волны 532 нм. Измерения проводились in vitro с идентификацией спектральных характеристик ткани (было снято по 20 спектров внутри каждого изучаемого класса ткани). Все полученные результаты были подтверждены данными гистологического исследования. Для обработки полученных данных применялись такие методы, как метод проекции на латентные структуры, линейный дискриминантный анализ, принцип наименьших квадратов, Савицкого-Голея и др.

Результаты

В ходе проведенного исследования были получены спектральные данные ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы и плоскоклеточной карциноме небных миндалин (рисунки 1,2). Данные представлены до обработки.



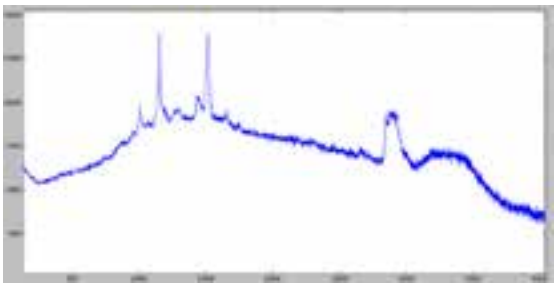


Рисунок 1 (слева). Спектральные характеристики ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите

Рисунок 2 (справа). Спектральные характеристики плоскоклеточной карциномы небных миндалин

На рисунках 3 и 4 изображены спектры после обработки.

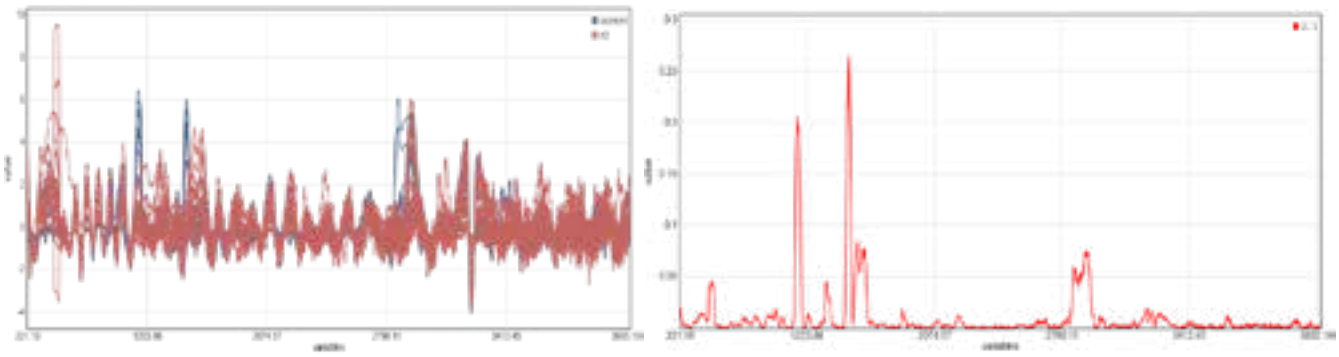


Рисунок 3 (слева). Данные после обработки: дифференциация плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита

Рисунок 4 (справа). Разделение спектральных характеристик при хроническом тонзиллите и плоскоклеточной карциноме небных миндалин; наиболее информативные полосы комбинационного рассеяния света

Разделение при анализе спектральных характеристик тканей при хроническом тонзиллите и плоскоклеточной карциноме небных миндалин было проведено с высокими уровнями специфичности (95,8%), чувствительности (90%), точности (94,1%). Наиболее информативными величинами волновых чисел (полосами комбинационного рассеяния света) были в данном случае следующие: 488, 1149, 1358, 1516, 1575, 1627, 2861, 2931 $см^{-1}$.

Выводы. На основании полученных данных на примере использования раман-флюоресцентных медицинских технологий приведено научное обоснование необходимости разработки методов ранней диагностики опухолевых заболеваний, что способствует постановке диагноза на стадии инициации патологического процесса и экспресс-идентификации злокачественного процесса в режиме реального времени и в перспективе позволит своевременно направить пациента на лечение и существенно повысить качество организации онкологической помощи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu D, Zhao X, Zeng X, Dan H, Chen Q. Non-Invasive Techniques for Detection and Diagnosis of Oral Potentially Malignant Disorders // Tohoku J Exp Med.- 2016.-238(2). -165-77. doi: 10.1620/tjem.238.165.
2. Herreros-Villanueva M, Bujanda L. Non-invasive biomarkers in pancreatic cancer diagnosis: what we need versus what we have // Ann Transl Med.-2016.-4(7).-134. doi: 10.21037/atm.2016.03.44.

3. Pellino G, Gallo G, Pallante P, Capasso R, De Stefano A, Maretto I, Malapelle U, Qiu S, Nikolaou S, Barina A, Clerico G, Reginelli A, Giuliani A, Sciaudone G, Kontovounisios C, Brunese L, Trompetto M, Selvaggi F. Noninvasive Biomarkers of Colorectal Cancer: Role in Diagnosis and Personalised Treatment Perspectives // Gastroenterol Res Pract.- 2018.- 2018:2397863. doi: 10.1155/2018/2397863.
4. Wang J, Liu Y, Sun W, Zhang Q, Gu T, Li G. Plasma exosomes as novel biomarker for the early diagnosis of gastric cancer // Cancer Biomark. – 2018.-21(4). -805-812. doi: 10.3233/CBM-170738.
5. Chakraborty D, Natarajan C, Mukherjee A. Advances in oral cancer detection // Adv Clin Chem.- 2019.-91.-181-200. doi: 10.1016/bs.acc.2019.03.006.
6. Wang R, Wang Y. Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Oral Cancer Diagnosis // Int J Mol Sci.-2021.-22(3). -1206. doi: 10.3390/ijms22031206.
7. Feng Z, Wu J, Lu Y, Chan YT, Zhang C, Wang D, Luo D, Huang Y, Feng Y, Wang N. Circulating tumor cells in the early detection of human cancers // Int J Biol Sci.-2022.-18(8). -3251-3265. doi: 10.7150/ijbs.71768.
8. Ain QU, Muhammad S, Hai Y, Peiling L. The role of urine and serum biomarkers in the early detection of ovarian epithelial tumours // J Obstet Gynaecol. -2022.-42(8). -3441-3449. doi: 10.1080/01443615.2022.2151352.
9. Siobhan Connal, James M. Cameron, Alexandra Sala, Paul M. Brennan, David S. Palmer, Joshua D. Palmer, Haley Perlow and Matthew J. Baker. Connal et al. Liquid biopsies: the future of cancer early detection // Journal of Translational Medicine. - 2023.- 21:118.- P.1-18. https://doi.org/10.1186/s12967-023-03960-8.
10. Kozhanov LG, Shatskaia NKh, Luchikhin LA. Principles of early diagnosis of malignant neoplasms in ENT organs // Vestn Otorinolaringol.- 2008.-(5).-7-10. Russian.
11. Daikhes NA, Vinogradov VV, Kim IA, Karneeva OV, Reshulsky SS, Khabazova AM. Sovremennye metody rannei diagnostiki opukholei gortani i glotki // [Modern methods of early diagnosis of tumors of the larynx and pharynx]. Vestn Otorinolaringol.- 2021.-86(3).-46-51. Russian. doi: 10.17116/otorino20218603146.
12. Crosby D, Bhatia S, Brindle KM, Coussens LM, Dive C, Emberton M, Esener S, Fitzgerald RC, Gambhir SS, Kuhn P, Rebbeck TR, Balasubramanian S. Early detection of cancer // Science. - 2022.-375(6586):eaay9040. doi: 10.1126/science.aay9040.
13. Marzorati D, Mainardi L, Sedda G, Gasparri R, Spaggiari L, Cerveri P. A review of exhaled breath: a key role in lung cancer diagnosis // J Breath Res.- 2019.-13(3):034001. doi: 10.1088/1752-7163/ab0684.
14. Rey-Barroso L, Peña-Gutiérrez S, Yáñez C, Burgos-Fernández FJ, Vilaseca M, Royo S. Optical Technologies for the Improvement of Skin Cancer Diagnosis: A Review // Sensors (Basel).- 2021.-21(1).-252. doi: 10.3390/s21010252.
15. Чучуева Н. Д., Свистушкин В.М., Решетов И.В., Пужеду Р. Возможности контактной эндоскопии в определении очагов неоангиогенеза при злокачественных новообразованиях гортани // РО. - 2018. - №2. - 93.

16. Liu T, Zhang XY, Sun Z. [Application of exfoliated cells in early diagnosis of oral cancer] // Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. Chinese. -2017.-52(3).-198-200. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2017.03.014.
17. Chang L, Li J, Zhang R. Liquid biopsy for early diagnosis of non-small cell lung carcinoma: recent research and detection technologies // Biochim Biophys Acta Rev Cancer. – 2022.-1877(3):188729. doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188729.
18. Makhmudova M.N. Clinical signs and methods of early detection of malignant tumor diseases // Мировая наука. – 2023.- №1.-70.
19. Sieroń A, Sieroń-Stołtny K, Kawczyk-Krupka A, Latos W, Kwiatek S, Straszak D, Bugaj AM. The role of fluorescence diagnosis in clinical practice // Onco Targets Ther.- 2013.- 6.-977-82. doi: 10.2147/OTT.S42074.
20. Mat Lazim N, Kandhro AH, Menegaldo A, Spinato G, Verro B, Abdullah B. Autofluorescence Image-Guided Endoscopy in the Management of Upper Aerodigestive Tract Tumors // Int J Environ Res Public Health. - 2022.-20(1). -159. doi: 10.3390/ijerph20010159.
21. Кудрин К.Г., Римская Е.Н., Аполлонова И.А., Николаев А.П., Черномырдин Н.В., Святославов Д.С., Давыдов Д.В., Решетов И.В. Ранняя диагностика меланомы кожи с применением нескольких изображающих систем // Оптика и спектроскопия. - 2020. - 128:6. -С.820-831. doi:10.21883/OS.2020.06.49416.53-20.
22. Prah MA, Al-Gizawiy MM, Mueller WM, Cochran EJ, Hoffmann RG, Connelly JM, Schmainda KM. Spatial discrimination of glioblastoma and treatment effect with histologically-validated perfusion and diffusion magnetic resonance imaging metrics // J Neurooncol.- 2018.-136(1).-13-21. doi: 10.1007/s11060-017-2617-3.
23. Wilson AD. Noninvasive Early Disease Diagnosis by Electronic-Nose and Related VOC-Detection Devices // Biosensors (Basel). - 2020.-10(7). -73. doi: 10.3390/bios10070073.
24. Kim DH, Kim SW, Hwang SH. Efficacy of non-invasive diagnostic methods in the diagnosis and screening of oral cancer and precancer // Braz J Otorhinolaryngol.- 2022.-88(6).-937-947. doi: 10.1016/j.bjorl.2020.12.019.
25. Harris AT, Rennie A, Waqar-Uddin H, Wheatley SR, Ghosh SK, Martin-Hirsch DP, Fisher SE, High AS, Kirkham J, Upile T. Raman spectroscopy in head and neck cancer // Head Neck Oncol.- 2010.- 2.-26. doi: 10.1186/1758-3284-2-26.
26. Ferrara L, Otto M, Aapro M, Albreht T, Jonsson B, Oberst S, Oliver K, Pisani E, Presti P, Rubio IT, Terkola R, Tarricone R. How to improve efficiency in cancer care: Dimensions, methods, and areas of evaluation // J Cancer Policy. -2022.- 34:100355. doi: 10.1016/j.jcpo.2022.100355.
27. Печатников Л. М. Междисциплинарное взѓимодействие как необходимое условие эффективности неотложной медицинской помощи // НМП. -2011. - №1.
28. Рудин В.В., Кабирова Ю.А., Сулимова Н.А. Роль мультидисциплинарного командного тренинга при обучении навыкам оказания экстренной помощи медицинскими работниками в нетипичных условиях // Виртуальные технологии в медицине. – 2021. - Т1. №4.

29. Tremblay D, Roberge D, Touati N, Maunsell E, Berbiche D. Effects of interdisciplinary teamwork on patient-reported experience of cancer care // BMC Health Serv Res.- 2017.-17(1).-218. doi: 10.1186/s12913-017-2166-7.
30. Taberna M, Gil Moncayo F, Jané-Salas E, Antonio M, Arribas L, Vilajosana E, Peralvez Torres E, Mesía R. The Multidisciplinary Team (MDT) Approach and Quality of Care // Front Oncol.- 2020.- 10.-85. doi: 10.3389/fonc.2020.00085.
31. Liam CK, Liam YS, Poh ME, Wong CK. Accuracy of lung cancer staging in the multidisciplinary team setting // Transl Lung Cancer Res.- 2020.-9(4). -1654-1666. doi: 10.21037/tlcr.2019.11.28.
32. Berardi R, Morgese F, Rinaldi S, Torniai M, Mentrasti G, Scortichini L, Giampieri R. Benefits and Limitations of a Multidisciplinary Approach in Cancer Patient Management // Cancer Manag Res.- 2020.-12:9363-9374. doi: 10.2147/CMAR.S220976.
33. Daikhes NA. The Interdisciplinary Approach and New Technologies in the Scientific and Clinical Development of Otorhinolaryngology // Her Russ Acad Sci.- 2021.-91(4):438-444. doi: 10.1134/S1019331621040018.
34. Тимурзиева А.Б. Использование раман-флуоресцентных технологий в ранней диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний как часть стратегического направления формирования общественного здоровья и инструмент для повышения качества оказания медицинской помощи: обзор литературы // Лазерная медицина. – 2021. -25(4). -42-50.
35. Becker L, Janssen N, Layland SL, Mürdter TE, Nies AT, Schenke-Layland K, Marzi J. Raman Imaging and Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy for Diagnosis of Cancer State and Metabolic Monitoring // Cancers (Basel). – 2021.-13(22). -5682. doi: 10.3390/cancers13225682.
36. Galli R, Meinhardt M, Koch E, Schackert G, Steiner G, Kirsch M, Uckermann O. Rapid Label-Free Analysis of Brain Tumor Biopsies by Near Infrared Raman and Fluorescence Spectroscopy-A Study of 209 Patients // Front Oncol.- 2019.- 9.-1165. doi: 10.3389/fonc.2019.01165.
37. Holler S, Mansley E, Mazzeo C, Donovan MJ, Sobrero M, Miles BA. Raman Spectroscopy of Head and Neck Cancer: Separation of Malignant and Healthy Tissue Using Signatures Outside the "Fingerprint" Region // Biosensors (Basel). - 2017.-7(2). -20. doi: 10.3390/bios7020020.
38. Teraphongphom N, Kong CS, Warram JM, Rosenthal EL. Specimen mapping in head and neck cancer using fluorescence imaging // Laryngoscope Investig Otolaryngol.- 2017.-2(6).-447-452. doi: 10.1002/lio2.84.
39. Olson MT, Ly QP, Mohs AM. Fluorescence Guidance in Surgical Oncology: Challenges, Opportunities, and Translation // Mol Imaging Biol.- 2019.-21(2). -200-218. doi: 10.1007/s11307-018-1239-2.
40. van Keulen S, Nishio N, Fakurnejad S, Birkeland A, Martin BA, Lu G, Zhou Q, Chirita SU, Forouzanfar T, Colevas AD, van den Berg NS, Rosenthal EL. The Clinical Application of Fluorescence-Guided Surgery in Head and Neck Cancer // J Nucl Med.- 2019.-60(6). -758-763. doi: 10.2967/jnumed.118.222810.
41. Dai ZY, Shen C, Mi XQ, Pu Q. The primary application of indocyanine green fluorescence imaging in surgical Oncology // Front Surg.- 2023.- 10:1077492. doi: 10.3389/fsurg.2023.1077492.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ПЕРВОГО ПЛЮСНЕФАЛАНГОВОГО СУСТАВА НА РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ НАБЛЮДЕНИЯ

П.В. Федотов, Д.В. Ковалев

ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары), Россия

Аннотация. Эндопротезирование - перспективное направление развития в оперативном лечении артроза первого плюснефалангового сустава, обеспечивающее восстановление кинематики первого плюснефалангового сустава с приближением функции сустава к нормальной. Отдаленные результаты применения данной методики изучены недостаточно, вследствие чего ее применение ограничено. В исследование включены 197 пациентов, результаты хирургического лечения деформирующего артроза первого плюснефалангового сустава с выполнением эндопротезирования керамическими имплантами Moje MOLANA MTP на различных сроках наблюдения оценены в 190 случаях. Контроль эффективности лечения осуществлялся на различных сроках наблюдения по факту очной или заочной консультации. Оценка по шкале AOFAS показала хорошие результаты лечения во всех интервалах наблюдения. Наилучшие показатели (93,1±7,6 балла) получены в ближнесрочном периоде наблюдения; результаты в 90±11,9 балла - на сроке наблюдения 1-3 года и 87,4±14,2 балла– более 3-х лет наблюдения. За 13 лет выявлено 6 случаев асептической нестабильности эндопротеза: 1 – через 1 год после операции, 1 - через 3, 2 - через 4 года и 2 - через 5 лет. Выполнено 4 ревизионных операции с полным удалением нестабильных компонентов и установкой эндопротеза Moje MOLANA MTP; оценка результатов по шкале AOFAS: 86,5±6,7 балла. Два пациента - в «листе ожидания» на ревизионную операцию. Отмечен 1 случай краевого некроза кожи на фоне ревматоидного артрита с последующей комбинированной кожной пластикой на сроке 2 нед. после проведенной операции. Положительные результаты эндопротезирования первого плюснефалангового сустава на отдаленных сроках не уступают результатам в ближне- и среднесрочном периодах наблюдения. Тотальное эндопротезирование первого плюснефалангового сустава успешно решает проблему болевого синдрома, обеспечивает оптимальный объем движения и механику шага. Дальнейшее исследование результатов эндопротезирования может стать основой для признания данного метода операцией выбора и расширить показания к его применению в лечении артроза первого пюснефалангового сустава.

Ключевые слова: плюснефаланговый сустав; Hallux rigidus; артроз плюснефалангового сустава; эндопротезирование плюснефалангового сустава; Moje MOLANA MTP.

RESULTS OF ARTHROPLASTY OF THE FIRST MATARPHALANGEAL JOINT AT DIFFERENT TERMS OF OBSERVATION

P.V. Fedotov, D.V. Kovalev

Federal State Budgetary Institution «Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Cheboksary), Russia

Summary. Endoprosthesis replacement is a promising direction of development in the surgical treatment of arthrosis of the first metatarsophalangeal joint, ensuring the restoration of the kinematics of the first metatarsophalangeal joint with the function of the joint approaching normal. The long-term results of using this technique have not been sufficiently studied, as a result of which its use is limited. The study included 197 patients; the results of surgical treatment of deforming arthrosis of the first metatarsophalangeal joint with endoprosthesis replacement with Moje MOLANA MTP ceramic implants at various follow-up periods were assessed in 190 cases. The effectiveness of treatment was monitored at various follow-up periods based on face-to-face or correspondence consultations. The AOFAS score showed good treatment results at all follow-up intervals. The best indicators (93.1±7.6 points) were obtained in the short-term observation period; results of 90±11.9 points for a follow-up period of 1-3 years and 87.4±14.2 points for more than 3 years of follow-up. Over 13 years, 6 cases of aseptic instability of the endoprosthesis were identified: 1 - 1 year after surgery, 1 - after 3, 2 - after 4 years and 2 - after 5 years. 4 revision surgeries were performed with complete removal of unstable components and installation of the Moje MOLANA MTP endoprosthesis; assessment of results on the AOFAS scale: 86.5±6.7 points. Two patients are on the waiting list for revision surgery. There was 1 case of marginal skin necrosis due to rheumatoid arthritis, followed by combined skin grafting for a period of 2 weeks. after the operation. Positive long-term results of endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint are not inferior to the results in the short- and medium-term follow-up periods. Total endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint successfully solves the problem of pain and provides optimal range of motion and step mechanics. Further study of the results of endoprosthetics may become the basis for recognizing this method as the operation of choice and expand the indications for its use in the treatment of arthrosis of this joint.

Keywords: metatarsophalangeal joint; Hallux rigidus; arthrosis of the metatarsophalangeal joint; endoprosthetics of the metatarsophalangeal joint; Moje MOLANA MTP

Введение. По частоте встречаемости среди патологий первого плюснефалангового сустава Hallux rigidus занимает второе место после Hallux valgus [1]. Hallux rigidus, о котором впервые сообщалось в 1887 году, является проявлением дегенеративного артрита первого плюснефалангового сустава, вызывающим локализованную боль и ограничение движений. Частота поражения составляет около 10% взрослого населения. Hallux rigidus преобладает у женщин, запущенные стадии обычно наблюдаются у пациентов в возрасте от 60 до 70 лет [2,3].

К настоящему времени разработано немало методов лечения данной патологии. Оперативные вмешательства с сохранением первого плюснефалангового сустава применяются на I-II стадиях развития артроза и могут выполняться как на основной фаланге, так и на первой плюсневой кости [4]. Операции без сохранения сустава выполняются на III стадии артроза с применением различных хирургических подходов [5,6]. Основными методами лечения терминальной стадии артроза первого плюснефалангового сустава в настоящее время являются артродез и эндопротезирование. О достоинствах и недостатках каждого метода дискуссия продолжается до сих пор. Артродез является «золотым стандартом» при лечении артроза первого плюснефалангового сустава во всем мире. Несмотря на утрату подвижности в суставе, стабилизируется медиальная колонна стопы, что позволяет полноценно переносить вес тела через передний отдел стопы в шаге [7-9]. Эндопротезирование - перспективное направление развития в оперативном лечении артроза первого плюснефалангового сустава, обеспечивающее восстановление кинематики первого плюснефалангового сустава с приближением функции сустава к нормальной [10]. Однако отдаленные результаты применения данной методики изучены недостаточно, вследствие чего ее применение ограничено [10-15].

Цель исследования - оценить результаты хирургического лечения деформирующего артроза первого плюснефалангового сустава с применением эндопротезирования керамическими эндопротезами Moje MOLANA MTP на различных сроках наблюдения.

Материалы и методы. В исследование включены все последовательные пациенты (n=197), прооперированные в ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары) за 2011-2023гг. В структуре оперированных пациентов 79,7% составили женщины, 20,3% - мужчины; возраст больных - от 22 до 77 лет. Показаниями к тотальному эндопротезированию первого плюснефалангового сустава служили Hallux rigidus, идиопатические и посттравматические артрозы, артриты подагрического генеза. В 100% случаев использовались имплантаты Moje MOLANA MTP. Срок после операции от 3 мес. до 1 года считали ближнесрочным периодом, 1-3 года – среднесрочным, более 3 лет – отдаленными результатами. Применены клинико-функциональный, рентгенологический (рентгенограмма стоп в двух проекциях), статистический методы исследования. Клиническая оценка результатов лечения и функционального состояния стоп до и

после операции проводилась с учетом сопутствующей патологии переднего отдела стопы (например, Hallux valgus) с использованием шкалы клинической оценки заболеваний стопы и голеностопного сустава AOFAS, позволяющей оценить анатомические и функциональные исходы после артропластики плюснефалангового сустава. Результат лечения считали отличным при сумме баллов 95-100, хорошим - 75-94 баллов, удовлетворительным - 51-74 балла, неудовлетворительным – 50 и менее баллов. 100 баллов означают отсутствие боли, полную амплитуду движений в суставах первого луча, отсутствие признаков нестабильности сустава, ограничений повседневной и профессиональной активности, выбора и ношении обуви. Контроль осуществлялся на различных сроках наблюдения по факту очной или заочной консультации. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программ Microsoft Excel 2007 и GraphPad.

Результаты. Оценены результаты операции у 190 пациентов (96,4%), в т.ч. в ближнесрочном периоде – 36 чел. (18,9%), на сроке 1-3 года – 46 чел. (24,3%), 3-13 лет – 108 чел. (56,8%). Семеро пациентов были недоступны в связи с изменением контактных данных. Зависимости результата от возраста пациента и степени физической активности не выявлено ($p>0,05$). Оценка по шкале AOFAS показала хорошие результаты лечения во всех интервалах наблюдения. Наилучшие показатели 93,1±7,6 балла (72-100) получены в ближнесрочном периоде наблюдения (n=36); хорошие результаты в 90±11,9 балла (62-100) - на сроке наблюдения 1-3 года (n=47) и 87,4±14,2 балла (62-100) – более 3-х лет наблюдения (n=107). Всего выявлено 6 случаев осложнений в виде асептической нестабильности эндопротеза: 1 – через 1 год после операции, 1 - через 3, 2 - через 4 года и 2 - через 5 лет. Выполнено 4 ревизионных операции с полным удалением нестабильных компонентов и установкой эндопротеза Moje MOLANA MTP с удлиненной ножкой для обеспечения лучшей стабильности. Оценка по шкале AOFAS в четырех случаях ревизионных вмешательств: 86,5±6,7 балла (77-92), что считается хорошим результатом. Два пациента находятся в «листе ожидания» на ревизионную операцию. Отмечен 1 случай краевого некроза кожи на фоне ревматоидного артрита с последующей комбинированной кожной пластикой на сроке 2 нед. после проведенной операции.

Заключение. Полученные нами положительные результаты эндопротезирования первого плюснефалангового сустава на отдаленных сроках не уступают результатам в ближне- и среднесрочном периодах наблюдения. Тотальное эндопротезирование первого плюснефалангового сустава успешно решает проблему болевого синдрома, обеспечивает оптимальный объем движения и механику шага. Дальнейшее исследование результатов эндопротезирования первого плюснефалангового сустава может стать основой для признания эндопротезирования операцией выбора и расширить показания к применению данного метода лечения артроза первого плюснефалангового сустава.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев В.В., Загородний Н.В., Макинян Л.Г. и др. Отдаленные результаты тотального эндопротезирования первого плюснефалангового сустава. *Кремлевская медицина*. *Клинический вестник*. 2015;4:52-55. EDN VLMPPP. [Grigor'ev V.V., Zagorodniy N.V., Makinyan L.G. et al. Long-term results of total arthroplasty of the first metatarsophalangeal joint. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik.* 2015;4:52-55. EDN VLMPPP. (In Russ.)]

2. Turan Cihan Dülgeroğlu, Hasan Metineren. Treatment of End-Stage Hallux Rigidus Using Total Joint Arthroplasty: A Short-Term Clinical Study. *Foot Ankle Surg*. 2017;56(5):1047-1051. ISSN 1067-2516. https://doi.org/10.1053/j.jfas.2017.05.017

3. Redfern D.J., Coleridge S.D., Bendall S.P. Early failure of the Moje screw-fit ceramic metatarsophalangeal joint replacement. *Foot*. 2003;13(4):204-208. ISSN 0958-2592. https://doi.org/10.1016/j.foot.2003.07.001.

4. Kardanov AA. Hirurgicheskaya korrekciya deformaciya stopy. M.: Medparktika-M; 2016. (In Russ.)

5. Горякин М.В., Ульянов В.Ю., Фроленков А.В. Опыт тотального эндопротезирования первого плюснефалангового сустава. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2019;15(3):633-636. EDN VREUNL. [Goryakin M.V., Ul'yanov V.Yu., Frolenkov A.V. Experience with total endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2019;15(3):633-636. EDN VREUNL. (In Russ.)]

6. Butterworth ML, Ugrinich M. First Metatarsophalangeal Joint Implant Options. *Clin Podiatr Med Sur*g. 2019 Oct;36(4):577-596. doi: 10.1016/j.cpm.2019.07.003. PMID: 31466569.

7. Пахомов И.А., Кузнецов В.В., Репин А В. и др. Эндопротезирование первого плюснефалангового сустава как альтернатива артропластической резекции по Шеде-Брандесу в комплексе лечения hallux rigidus. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2016;36(6):35-40. EDN XEASIV. [Pakhomov I.A., Kuznetsov V.V., Repin A V. et al. Endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint as an alternative to arthroplastic resection according to Schede-Brandes in the complex treatment of hallux rigidus. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal.* 2016;36(6):35-40. EDN XEASIV. (In Russ.)]

8. Исайкин П.Ю., Николаенко А.Н., Гранкин И.О. и др. Артроз первого плюснефалангового сустава (обзор литературы). *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2022;23(1):147-163. EDN OTIQWK. [Isaykin P.Yu., Nikolaenko A.N., Grankin I.O. et al. Arthrosis of the first metatarsophalangeal joint (literature review). Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal. 2022;23(1):147-163. EDN OTIQWK. (In Russ.)]

9. Usuelli FG, Tamini J, Maccario C, Grassi M, Tan EW. Bone-block arthrodesis procedure in failures of first metatarsophalangeal joint replacement. *Foot Ankle Surg*. 2017 Sep;23(3):163-167. doi: 10.1016/j.fas.2017.03.003. Epub 2017 Mar 22. PMID: 28865584.

10. Young Hwan Park, Jae Hyun Jung, Seong Hyun Kang, Gi Won Choi, Hak Jun Kim. Implant Arthroplasty versus Arthrodesis for the Treatment of Advanced Hallux Rigidus: A Meta-analysis of Comparative Studies. *Foot Ankle Surg*. 2019;58(1):137-143. ISSN 1067-2516. https://doi.org/10.1053/j.jfas.2018.08.045.

11. Patel S, Garg P, Fazal MA, Ray PS. First Metatarsophalangeal Joint Arthrodesis Using an Intraosseous Post and Lag Screw With Immediate Bearing of Weight. *J Foot Ankle Surg*. 2019 Nov;58(6):1091-1094. doi: 10.1053/j.jfas.2019.01.006. PMID: 31679663.

12. Кавалерский Г.М., Ченский А.Д., Сорокин А.А., Прохорова М.Ю. Эндопротезирование первого плюснефалангового сустава при Hallux rigidus. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2014;1:7-9. EDN UMSDZL. [Kavalerskiy G.M., Chenskiy A.D., Sorokin A.A., Prokhorova M.Yu. Endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint for hallux rigidus. *Kafedra travmatologii i ortopedii*. 2014;1:7-9. EDN UMSDZL. (In Russ.)]

13. Колсанов А.В., Николаенко А.Н., Иванов В.В. и др. Анализ биомеханики первого плюснефалангового сустава после эндопротезирования. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2023;5:58-64. DOI 10.17116/hirurgia202305158. EDN QAPXQU. [Kolsanov A.V., Nikolaenko A.N., Ivanov V.V. et al. Analysis of the biomechanics of the first metatarsophalangeal joint after endoprosthetics. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova.* 2023;5:58-64. DOI 10.17116/hirurgia202305158. EDN QAPXQU. (In Russ.)]

14. Пахомов И.А., Кузнецов В.В., Прохоренко В.М. др. Эндопротезирование в комплексе лечения деформирующего остеоартроза первого плюснефалангового сустава. Научные достижения и современные технологии в Российской травматологии и ортопедии: Объединенная Всеросс.научно-образов.конф., посвящ. памяти проф. А.Н. Горячева и VII научно-образов.конф. травматологов и ортопедов ФМБА России, Омск, 31.03–01.04.2017. Омск: Омскбланкиздат, 2017. – С. 217-218. – EDN ORDPMQ. [Pakhomov I.A., Kuznetsov V.V., Prokhorenko V.M. et al. Endoprosthesis replacement as part of the treatment of deforming osteoarthritis of the first metatarsophalangeal joint. Nauchnye dostizheniya i sovremennye tekhnologii v Rossiyskoy travmatologii i ortopedii: Ob"edinennaya Vseross.nauchno-obrazov.konf., posvyashch. pamyati prof. A.N. Goryacheva i VII nauchno-obrazov.konf. travmatologov i ortopedov FMBA Rossii, Omsk, 31.03–01.04.2017. Omsk: Omskblankizdat, 2017. – S. 217-218. – EDN ORDPMQ. (In Russ.)]

15. Петросян А.С., Загородний Н.В., Елкин Д.В. и др. Тотальное эндопротезирование I плюснефалангового сустава. Ближайшие результаты. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2012;3:59-63. EDN PTVGHL. [Petrosyan A.S., Zagorodniy N.V., Elkin D.V. et al. Total endoprosthetics of the first metatarsophalangeal joint. Immediate results. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorov*a. 2012;3:59-63. EDN PTVGHL. (In Russ.)]

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПЭТ/КТ С ^{18}F-ДОФА ПРИ БИОХИМИЧЕСКОМ РЕЦИДИВЕ МЕДУЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.В. Центр, А.А. Зырянова, М.А. Руснак, Д.В. Рыжкова

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Санкт-Петербург, Россия

Медуллярный рак щитовидной железы (МРЩЖ) – редкая нейроэндокринная опухоль щитовидной железы. Происхождение из парафолликулярных С-клеток, способных к секреции биологически активных веществ, обусловливает наличие специфичного онкомаркера данной опухоли – кальцитонина. В 75-80% случаев МРЩЖ регистрируется в виде спорадических форм, в остальных случаях этот вид опухоли может развиваться в рамках синдрома множественных эндокринных неоплазий (МЭН) 2a и 2b типов. [1, 2]. Отсутствие специфичной симптоматики спорадического МРЩЖ обусловливает позднюю диагностику что объясняет неблагоприятный прогноз радикальности хирургического лечения, рецидивирования.

Наиболее специфичным методом диагностики рецидива МРЩЖ в послеоперационном периоде является контроль уровня базального кальцитонина сыворотки крови [3, 4]. Пациенты с уровнем базального кальцитонина ≤10 пг/мл в послеоперационном периоде находятся в состоянии биохимической ремиссии. Повышение уровня базального кальцитонина >10 пг/мл может свидетельствовать о наличии рецидивной опухолевой ткани, в том числе, при значениях показателя >150 пг/мл, заподозрить очаги отдаленного метастазирования.

Метод позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с рентгеновской компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) является наиболее информативным для поиска местного рецидива и отдаленных метастазов, методы анатомической визуализации (рентгеновская компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ)), не обладают оптимальной чувствительностью и специфичностью в поиске рецидивной опухоли [5–11].

Радиофармацевтическим лекарственным препаратом (РФЛП) первой линии для ПЭТ/КТ при МРЩЖ, является меченый изотопом ^{18}F синтетический аналог аминокислоты L-дигидроксифенилаланина - ^{18}F-дигидроксифенилаланин (^{18}F-ДОФА) [12]. Чувствительность ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА в диагностике местного рецидива и отдалённого

метастазирования МРЩЖ по данным зарубежной литературы достигает 70% [10, 13] и обладает преимуществом в идентификации метастазов МРЩЖ в костях и печени перед традиционными методами лучевой диагностики [14]. Имеются противоречивые данные о чувствительности метода ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА в диагностике рецидивной опухоли при МРЩЖ в зависимости от уровня базального кальцитонина крови [15,19,21-25].

Цель исследования. Изучение диагностических возможностей ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА у пациентов с биохимическим рецидивом медуллярной карциномы щитовидной железы в зависимости от уровня базального кальцитонина в плазме крови.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА 67 пациентов с установленным диагнозом медуллярного рака щитовидной железы, прошедших исследование в отделении радиологии Университетской клиники ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» в период с 2018 по 2023 год. У 12 пациентов ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА выполнялась неоднократно, том числе, у двоих пациентов более 2 раз, суммарно в анализ было включено 81 исследование. Распределение пациентов по полу: женщин 67% (45/67), мужчин 33% (22/67), медиана возраста пациентов составила 49 лет [37; 62]. Всем пациентам на момент исследования была проведена тиреоидэктомия, медиана послеоперационного периода составила 33 месяца [14; 62], минимальный послеоперационный период – 1 месяц. Тиреоидэктомия дополнялась: регионарной лимфодиссекцией в 84% (68/81) случаев, лучевой терапией в 14% (11/81) случаев, таргетной терапией в 14% (11/81) случаев. Все пациенты представили данные об уровне базального кальцитонина сыворотки крови, полученные не позднее 2 месяцев до процедуры ПЭТ/КТ с ^{18}F-ДОФА. Медиана уровня кальцитонина на момент исследования составила 241,0 пг/мл [96,7; 534,0]. В 5 случаях уровень кальцитонина находился на неопределяемом уровне (менее 10 пг/мл), в 76 случаях регистрировался повышенный уровень онкомаркера (более 10 пг/мл), что позволило диагностировать биохимический рецидив заболевания.

Процедура ПЭТ/КТ проводилась натощак, с периодом голодания не менее 4 часов. Исследование проводилось на совмещенной системе ПЭТ/КТ «Discovery 710» (GE) через 30 минут после внутривенного введения ^{18}F-ДОФА из расчета 4 МБк/кг массы тела пациента (не менее 100 МБк), в режиме «все тело», в положении пациента лежа на спине. Протокол исследования включал в себя получение топограммы, выполнение низкодозной КТ с целью коррекции аттенуации, сбор данных ПЭТ в статическом режиме длительностью 3 минуты на одну «кровать» и компьютерную томографию с внутривенным введением йодсодержащего рентгеноконтрастного вещества «Омнипак» 300.

Постпроцессинговая обработка результатов ПЭТ/КТ была выполнена с использованием специального программного обеспечения рабочей станции AW (GE). Анализ результатов ПЭТ/КТ, включал в себя визуальную оценку изображений в аксиальной, сагиттальной и корональной плоскостях, оценку интенсивности накопления РФЛП в выявленных очагах путем расчета максимального значения стандартизированного показателя захвата (standardized uptake value, SUV), нормализованного на безжировую массу тела (SUVlbm max), а также расчет суммарного объема ПЭТ-позитивной опухолевой ткани путем построения объемной области интереса (VOI) над каждым выявленным очагом с автоматическим оконтуриванием по устанавливаемому пороговому значению SUVlbm max 50%. При обнаружении структурных изменений по данным КТ проводилась оценка их размеров, формы и структуры.

Результаты

В 41/76 исследований у пациентов с биохимическим рецидивом МРЩЖ были выявлены очаги патологической гипераккумуляции ^{18}F-ДОФА, расцененные как рецидивные опухолевые очаги. В 2 исследованиях по данным КТ были выявлены очаги структурного рецидива, не сопровождающиеся патологическим накоплением РФЛП. Наиболее частой локализацией рецидивной опухоли являлись регионарные лимфатические узлы. Отдаленные метастазы регистрировались, преимущественно, при уровне кальцитонина более 107 пг/мл.

Все пациенты были разделены на группы в соответствии с уровнем онкомаркера. В каждой группе определено количество случаев с ПЭТ-позитивными и ПЭТ-негативными результатами (Рис.1).

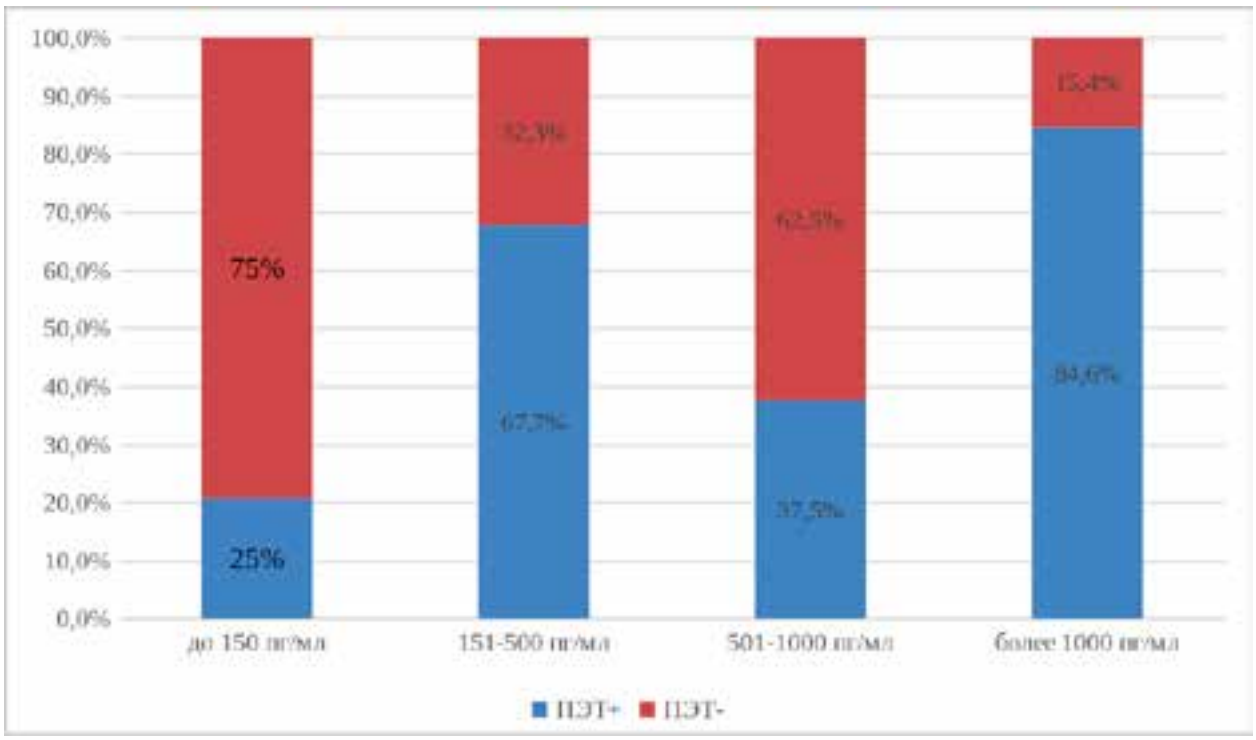


Рис. 1. Распределение ПЭТ-позитивных (ПЭТ+) и ПЭТ-негативных (ПЭТ-) результатов ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА согласно уровню базального кальцитонина крови перед исследованием

В двух случаях при уровне кальцитонина более 1000 пг/мл, ПЭТ-негативный результат был связан с дедифференцировкой опухолевой ткани, что в последующем подтверждалось ростом уровня ракового эмбрионального антигена и ПЭТ-позитивными результатами ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА.

Определена заметная положительная корреляция между уровнем базального кальцитонина и количеством выявленных очагов патологического накопления РФЛП (коэффициент корреляции 0,532, $p<0,001$) и между уровнем базального кальцитонина и их суммарным метаболическим объемом (коэффициент корреляции 0,535, $p<0,001$).

Определен существенный вклад ПЭТ в чувствительность метода по сравнению с рентгеновской компьютерной томографией с контрастным усилением (рис. 2). Метод продемонстрировал наибольшую информативность в выявлении вторичного поражения структурно неизмененных лимфатических узлов.

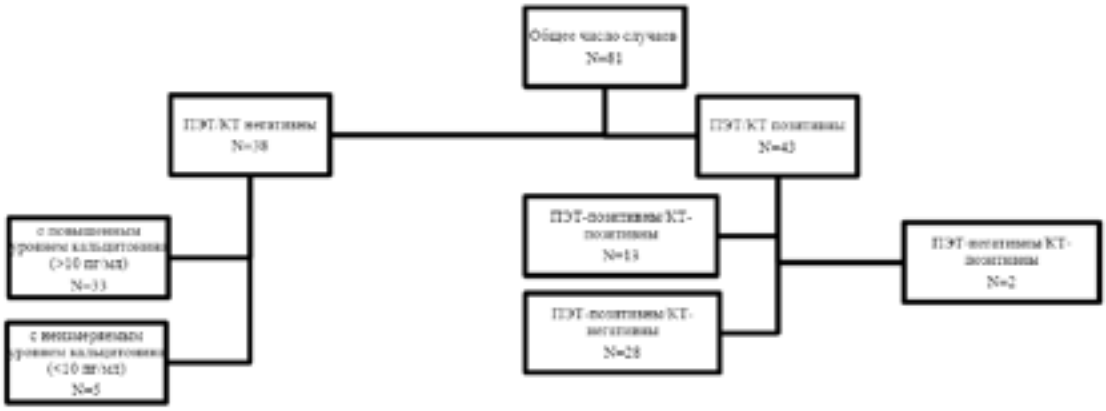


Рис. 2. Вклад ПЭТ в чувствительность метода

Выполнено сравнение раздельного вклада методов ПЭТ и КТ с контрастным усилением в диагностику рецидивной опухоли в соответствии с уровнем базального кальцитонина (Рис. 3).

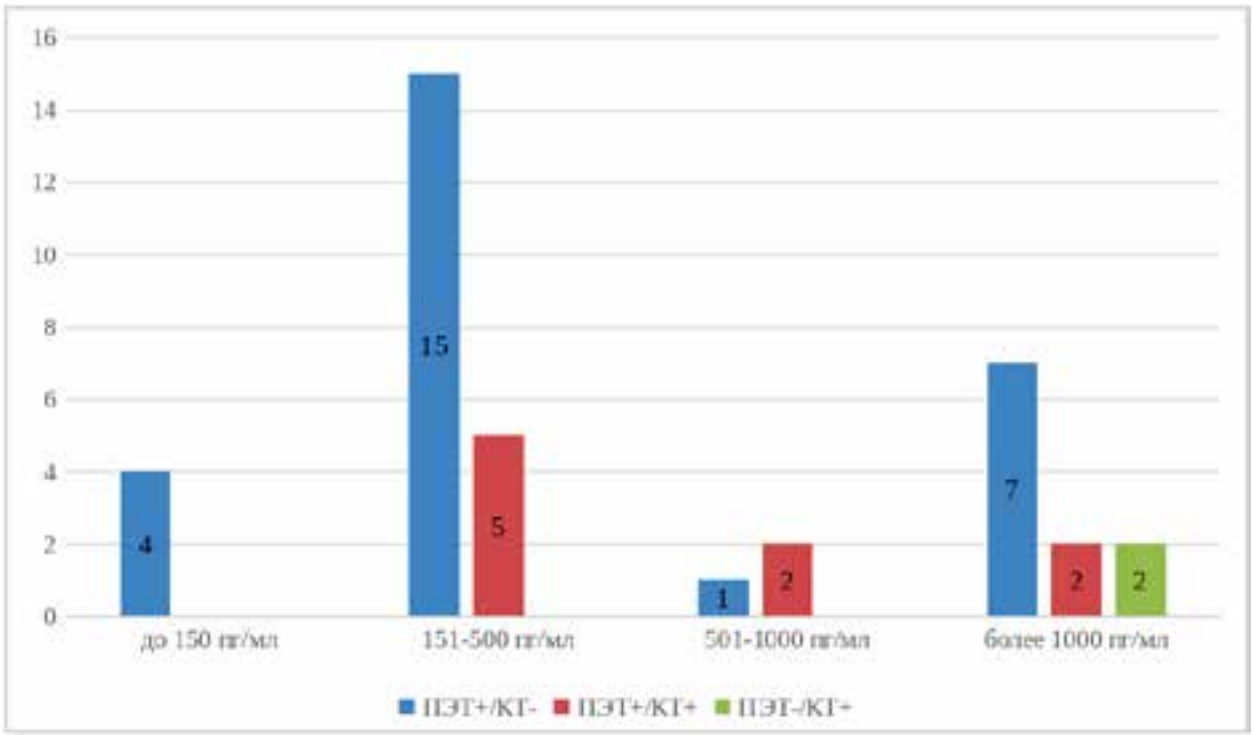


Рис. 3. Выявляемость метастазов в лимфатические узлы в зависимости от уровня кальцитонина (количество случаев). ПЭТ+/КТ- - ПЭТ-позитивные/КТ-негативные очаги, ПЭТ+/КТ+ -ПЭТ-позитивные/КТ-позитивные очаги, ПЭТ-/КТ+ -ПЭТ-негативные/КТ-позитивные очаги

Обсуждение

Чувствительность ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА в определении рецидивной опухоли при биохимическом рецидиве МРЩЖ составляет более 70%, что подтверждается мировым опытом [11, 14, 19].

Данные об информативности ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА в зависимости от значения кальцитонина противоречивы. Большинство исследователей сходятся во мнении, о наибольшей информативности метода достигается при значении кальцитонина равного или выше 150 пг/мл [15–18]. Также, имеются отличные от общепризнанных данные, например, в исследовании Hoegerle et al. наибольшая чувствительность метода достигалась при уровне кальцитонина выше 550 пг/мл [20], в исследовании Asa et al. предлагается оптимальное для высокой чувствительности и специфичности результатов ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА пороговое значение уровня кальцитонина в 421 пг/мл [21], а в исследовании Archier et al. - ≤150 пг/мл (29-141 пг/мл), при этом значимой зависимости результатов ПЭТ/КТ от уровня онкомаркера выявлено не было [14].

Настоящее исследование демонстрирует возрастание диагностической эффективности ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА прямо пропорционально уровню базального кальцитонина крови, при этом, обнаружение источника биохимического рецидива даже при низком значении онкомаркера (менее 150 пг/мл) свидетельствует о целесообразности выполнения ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА независимо от его концентрации.

Результаты настоящего исследования подтверждают высокий вклад метода ПЭТ в в частоту обнаружения рецидивной опухоли у пациентов с биохимическим рецидивом медуллярной карциномы щитовидной железы: в 28 из 43 ПЭТ/КТ позитивных случаев (65,1%) опухолевый очаг был обнаружен только на основании результатов ПЭТ, в 30,2% (13/43) отмечались согласованные результаты ПЭТ и КТ и лишь в 2 из 43 случаев метод КТ превосходил ПЭТ по чувствительности в обнаружении рецидивной опухолевой ткани у пациентов со значительным повышением уровня кальцитонина, что было обусловлено дедифференцировкой опухолевых клеток.

Выводы:

1. Низкие показатели базального кальцитонина сыворотки крови не исключают вероятность обнаружения патологических очагов у пациентов с биохимическим рецидивом медуллярной карциномы щитовидной железы. Тем не менее, частота обнаружения рецидивной опухолевой ткани по данным ПЭТ/КТ с 18F-ДОФА возрастает пропорционально уровню онкомаркера.

2. Метод ПЭТ 18F-ДОФА демонстрирует преимущество над рентгеновской компьютерной томографией в обнаружении метастазов МРЩЖ, что объясняется отсутствием структурных изменений в очагах метастатического поражения, тем не менее, выполнение гибридного ПЭТ/КТ исследования повышает диагностику ДОФА-негативной рецидивной опухоли у пациентов с высоким уровнем кальцитонина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондратович В.А., Жуковец А.Г., Леонова Т.А. Клинико-эпидемиологическая характеристика и прогноз клинического течения медуллярного рака щитовидной железы // Онкологический журнал. — 2021. — Т. 15. — № 2. — С. 13-18.

2. Пинский С.Б., Белобородов В.А., Дворниченко В.В., Баторoев Ю.К. Наследственный медуллярный рак щитовидной железы // Поволжский онкологический вестник. — 2019. — Т. 10. — № 3. — С. 33-39.

3. Filetti S., Durante C., Hartl D., Leboulleux S., Locati L.D., Newbold K., Papotti M.G., Berruti A. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Annals of Oncology. — 2019. — Vol. 30. — Thyroid cancer. — No. 12. — P. 1856-1883.

4. Haddad R.I., Bischoff L., Ball D., Bernet V., Blomain E., Busaidy N.L., Campbell M., Dickson P., Duh Q.-Y., Ehya H., Goldner W.S., Guo T., Haymart M., Holt S., Hunt J.P., Iagaru A., Kandeel F., Lamonica D.M., Mandel S., Markovina S., McIver B., Raeburn C.D., Rezaee R., Ridge J.A., Roth M.Y., Scheri R.P., Shah J.P., Sipos J.A., Sippel R., Sturgeon C., Wang T.N., Wirth L.J., Wong R.J., Yeh M., Cassara C.J., Darlow S. Thyroid Carcinoma, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // Journal of the National Comprehensive Cancer Network. — 2022. — Т. 20. — № 8. — С. 925-951.

5. Газизова Д.О., Бельцевич Д.Г. Современный взгляд на проблему диагностики и лечения медуллярного рака щитовидной железы // Эндокринная хирургия. — 2013. — № 3. — С. 4-21.

6. Kim M., Kim B.H. Current Guidelines for Management of Medullary Thyroid Carcinoma // Endocrinology and Metabolism. — 2021. — Vol. 36. — No. 3. — P. 514-524.

7. Wang L., Kou H., Chen W., Lu M., Zhou L., Zou C. The Diagnostic Value of Ultrasound in Medullary Thyroid Carcinoma: A Comparison With Computed Tomography // Technology in Cancer Research & Treatment. — 2020. — Vol. 19. — The Diagnostic Value of Ultrasound in Medullary Thyroid Carcinoma. — P. 1-6.

8. Ganeshan D., Paulson E., Duran C., Cabanillas M.E., Busaidy N.L., Charnsangavej C. Current Update on Medullary Thyroid Carcinoma // American Journal of Roentgenology. — 2013. — Vol. 201. — No. 6. — P. W867-W876.

9. Kaliszewski K., Ludwig M., Ludwig B., Mikuła A., Greniuk M., Rudnicki J. Update on the Diagnosis and Management of Medullary Thyroid Cancer: What Has Changed in Recent Years? // Cancers. — 2022. — Vol. 14. — Update on the Diagnosis and Management of Medullary Thyroid Cancer. — No. 15. — P. 1-24.

10. Imperiale A., Berti V., Burgy M., Cazzato R.L., Piccardo A., Treglia G. Molecular imaging and related therapeutic options for medullary thyroid carcinoma: state of the art and future opportunities // Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. — 2023. — Molecular imaging and related therapeutic options for medullary thyroid carcinoma.

11. Bozkurt M.F., Virgolini I., Balogova S., Beheshti M., Rubello D., Decristoforo C., Ambrosini V., Kjaer A., Delgado-Bolton R., Kunikowska J., Oyen W.J.G., Chiti A., Giammarile F., Fanti S. Guideline for PET/CT imaging of neuroendocrine neoplasms with 68Ga-DOTA-conjugated somatostatin receptor targeting peptides and 18F–DOPA // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. — 2017. — Vol. 44. — No. 9. — P. 1588-1601.

12. Calabria F., Schillaci O.,eds. Radiopharmaceuticals: A Guide to PET/CT and PET/MRI. Radiopharmaceuticals / 121351. — Cham: Springer International Publishing, 2020.

13. Fargette C., Imperiale A., Taïeb D. Molecular imaging of endocrine neoplasms with emphasis on 18F-DOPA PET: a practical approach for well-tailored imaging protocols // The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. — 2022. — T. 66. — Molecular imaging of endocrine neoplasms with emphasis on 18F-DOPA PET. — № 2. — С. 141-147.

14. Archier A., Heimburger C., Guerin C., Morange I., Palazzo F.F., Henry J.-F., Schneegans O., Mundler O., Abdullah A.E., Sebag F., Imperiale A., Taïeb D. 18F-DOPA PET/CT in the diagnosis and localization of persistent medullary thyroid carcinoma // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. — 2016. — Vol. 43. — No. 6. — P. 1027-1033.

15. Romero-Lluch A.R., Cuenca-Cuenca J.I., Guerrero-Vázquez R., Martínez-Ortega A.J., Tirado-Hospital J.L., Borrego-Dorado I., Navarro-González E. Diagnostic utility of PET/CT with 18F-DOPA and 18F-FDG in persistent or recurrent medullary thyroid carcinoma: the importance of calcitonin and carcinoembryonic antigen cutoff // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. — 2017. — Vol. 44. — Diagnostic utility of PET/CT with 18F-DOPA and 18F-FDG in persistent or recurrent medullary thyroid carcinoma. — No. 12. — P. 2004-2013.

16. Treglia G., Cocciolillo F., Di Nardo F., Poscia A., De Waure C., Giordano A., Rufini V. Detection Rate of Recurrent Medullary Thyroid Carcinoma Using Fluorine-18 Dihydroxyphenylalanine Positron Emission Tomography // Academic Radiology. — 2012. — Vol. 19. — No. 10. — P. 1290-1299.

17. Treglia G., Rufini V., Piccardo A., Imperiale A. Update on Management of Medullary Thyroid Carcinoma: Focus on Nuclear Medicine // Seminars in Nuclear Medicine. — 2023. — Vol. 53. — Update on Management of Medullary Thyroid Carcinoma. — No. 4. — P. 481-489.

18. Wells S.A., Asa S.L., Dralle H., Elisei R., Evans D.B., Gagel R.F., Lee N., Machens A., Moley J.F., Pacini F., Raue F., Frank-Raue K., Robinson B., Rosenthal M.S., Santoro M., Schlumberger M., Shah M., Waguespack S.G. Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Medullary Thyroid Carcinoma // Thyroid. — 2015. — Vol. 25. — Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma. — No. 6. — P. 567-610.

19. Santhanam P., Taïeb D. Role of ^{18} F-FDOPA PET/CT imaging in endocrinology // Clinical Endocrinology. — 2014. — Vol. 81. — No. 6. — P. 789-798.

20. Hoegerle S., Altehoefer C., Ghanem N., Brink I., Moser E., Nitzsche E. 18F-DOPA positron emission tomography for tumour detection in patients with medullary thyroid carcinoma and elevated calcitonin levels // European Journal of Nuclear Medicine. — 2001. — Vol. 28. — No. 1. — P. 64-71.

21. Asa S., Sonmezoglu K., Uslu-Besli L., Sahin O.E., Karayel E., Pehlivanoglu H., Sager S., Kabasakal L., Ocak M., Sayman H.B. Evaluation of F-18 DOPA PET/CT in the detection of recurrent or metastatic medullary thyroid carcinoma: comparison with GA-68 DOTA-TATE PET/CT // Annals of Nuclear Medicine. — 2021. — Vol. 35. — Evaluation of F-18 DOPA PET/CT in the detection of recurrent or metastatic medullary thyroid carcinoma. — No. 8. — P. 900-915.

РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ НОВОГО МЕТОДА НАВИГАЦИОННОЙ ТРЕПАН-БИОПСИИ ЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ

А.М. Цициашвили, Л.К. Абраамян, А.М. Панин, Д.А. Лежнев

ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России

Актуальность. В вопросах диагностики структурных изменений челюстей «золотым стандартом» принято считать «открытую биопсию» [1]. При этом для получения образца костной ткани врач вынужден создавать операционное поле практически «вслепую», ориентируясь только на результаты рентгенологического обследования и пытаясь перенести их на хирургический этап [2]. Это расширяет объем операции, увеличивает риск травмирования соседних анатомических элементов, в связи с чем «открытая биопсия» достаточно ограничена. Альтернативой «открытой биопсии» является толстоигольная биопсия, однако при этом работа осуществляется также, практически, «вслепую» [3]. В последнее десятилетие в стоматологии идет активное внедрение цифровых технологий. Так, при лечении пациентов с использованием дентальных имплантатов в области отсутствующих зубов широко распространена практика изготовления навигационных хирургических шаблонов, которые позволяют на этапе планирования определить оптимальное положение будущего дентального имплантата у конкретного пациента и на этапе операции осуществить установку имплантата по заранее смоделированной траектории [4]. Подобная технология изготовления навигационных хирургических шаблонов взята нами за основу разработки нового метода навигационной трепан-биопсии челюстей, который, является актуальным в вопросах диагностики структурных изменений челюстных костей и может позволить проводить данную диагностическую операцию минимально инвазивно, в точности с зоной интереса, без повреждения соседних анатомических структур [5-7].

Для внедрения метода и определения особенностей его использования, актуальной представляется оценка его клинико-диагностической эффективности на примере гиперплотных участков структурных изменений челюстей, которые встречаются в рутинной практике врача-стоматолога и вызывают вопросы клинико-рентгенологической верификации.

Цель: повышение эффективности диагностики структурных изменений челюстных костей путем разработки нового метода навигационной трепан-биопсии.

Материалы и методы

Исследование включало два этапа – экспериментальную и клиническую часть. Материалами экспериментальной части исследования стали трепан-биоптаты бедренной кости крупного рогатого скота (тип костной ткани D1 по классификации Misch [8], полученные машинным трепаном под охлаждением раствором хлорида натрия 0,9% (+5С^{o}) 110мл/мин. Для определения оптимального режима остеотомии при моделировании навигационной трепан-биопсии кости с

использованием заранее изготовленного навигационного хирургического шаблона было получено 15 трепан-биоптатов, из них при скорости остеотомии 350 об/мин – 5 образцов, 200 об/мин – 5 образцов, 50 об/мин – 5 образцов. Фиксировали время остеотомии в каждом наблюдении (мин).

Полученные трепан-биоптаты кости фиксировали в 10% забуференном растворе формалина («Биовитрум», Россия), и передавали в патологоанатомическую лабораторию, после подготовки образцов изготавливали парафиновые срезы толщиной 3 мкм, которые окрашивали гематоксилином по Майеру и эозином («Биовитрум», Россия), а также по Маллори («Биовитрум», Россия). На полученных микропрепаратах отмечали наличие или отсутствие изменений тинкториальных свойств остеина вследствие коагуляционного повреждения костного матрикса. В программе SlideViewer (версия 2.5.0.143918 3DHISTECH для Microsoft Windows 7) встроенным инструментом проводили измерение ширины патологических изменений в мкм с помощью функции линейного замера. Проводили по 10 измерений каждого образца, после чего выводили медиану полученных данных по всем биоптатам одной группы. Результаты подвергались статистической обработке. Статистическую значимость определяли с помощью одностороннего дисперсионного анализа Краскала-Уоллиса, в ПО Microsoft Exel ver. 1668 для MacOS; достоверность отмечалась при значении ($P \leq 0,05$).

В клинической части в исследование были включены 62 пациента. Из них 19 мужчин и 43 женщины, возрастом от 20 до 77 лет. Пациентов включали в исследование на основании критериев: пациенты от 18 лет, обоих полов; пациенты, с гиперплотными структурными изменениями челюстных костей; наличие заключения рентгенолога, отсутствие объективных клинико-рентгенологических признаков наличия злокачественного процесса. Исследование было одобрено комитетом по этике (выписка из протокола № 12-20 Межвузовского Комитета по этике от 19.11.2020), пациенты подписывали стандартную форму информированного добровольного согласия.

Пациенты были разделены на две группы по 31 человеку методом «слепых» конвертов: первой группе была проведена навигационная трепан-биопсия с использованием ручной иглы-трепаны для трепан-биопсии; второй группе проведена навигационная трепан-биопсия с использованием машинных трепанов.

Гиперплотные участки структурных изменений челюстей у пациентов были обнаружены случайным образом при клинико-рентгенологическом обследовании, которое включало клинический осмотр и проведение конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) с описанием. При обнаружении гиперплотного участка структурных изменений для планирования навигационной трепан-биопсии и последующего патологоморфологического исследования материала пациенту проводили снятие оттисков челюстей с последующим их цифровым

сканированием, сопоставлением с данными КЛКТ в программе-планировщике, моделировании и печати хирургического шаблона для проведения навигационной трепан-биопсии [5-7].

Для оценки клинической эффективности метода навигационной трепан-биопсии челюстей у пациентов обеих групп отмечали факт получения биоматериала («успешность операции») (1), и «безуспешность» (0), при его отсутствии. Также «успешность операции» оценивали в зависимости от пола (муж/жен); возрастной группы (молодая – 18-44 лет, средняя – 45-59 лет, пожилая – 60-74 лет, старческая – 75-90 лет); типа кости в области биопсии (D1, D2, D3, D4 по классификации C. Mish, 1988 г. [8]); расстояние до ближайшей поверхности кости, откуда планировалась трепано-биопсия (в мм); размеры зоны интереса (высота, ширина, длина; в мм); область зуба (FDI); отдел челюсти (боковой/фронтальный); плотность костной ткани (в ед. Hu); возникшие осложнения (отсутствие биоптата в трепане, сложность извлечения биоптата из просвета трепана). Полученный биоптат отправляли на патологоморфологическое исследование. Оценку клинического течения послеоперационного периода проводили на 1е, 3и и 7е сутки после биопсии. Оценивали отек и эпителизацию раневой поверхности, где 0 – отсутствие параметра, 3 – максимально выраженный параметр. Боль оценивали по визуально-аналоговой шкале от 0 до 10. Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием программы Statistica 13.0. Проводили дисперсионный однофакторный анализ. Для определения достоверности внутригрупповых или межгрупповых отличий применяли коэффициент U-критерий Манна-Уитни ($p<0,05$).

Результаты и обсуждение

При моделировании остеотомии в рамках навигационной трепан-биопсии с использованием хирургического шаблона и машинного трепана зоны изменения тинкториальных свойств остеина вследствие коагуляционного повреждения костного матрикса выявлены при скорости остеотомии 50 об/мин в 2 наблюдениях, при скоростях 200 об/мин и 350 об/мин во всех наблюдениях. Значения ширины зон изменений свойств остеина составили 5,45 мкм при скорости остеотомии 50 об/мин и далее с увеличением скорости отмечалось увеличение медианных значений ($p<0,001$), которое составило 36,82 мкм при скорости остеотомии 200 об/мин и 98,36 мкм при 350 об/мин. Последующие значения можно считать критическими, так как они будут составлять до 1/3 от диаметра трепан-биоптата, что может являться отягчающим фактором для правильного морфологического исследования.

По результатам клинической части исследования «успешность» навигационной трепан биопсии в группе 1 составила 16 операций (52%), в группе 2 – 23 (71%) ($p<0.05$). При оценке успешности навигационной трепан-биопсии в 1-й и 2-й группах пациентов в зависимости от отдела челюсти, отмечено, что во фронтальном отделе успешность была 100% в обеих группах, в боковых отделах успешность для каждой из групп была меньше ($p<0.05$) и составляла 48% в 1й группе и 70% во 2й.

Подобные результаты могут быть связаны с плотностью костной ткани в области биопсии. Так, в области считающейся менее плотной кости, тип D3 по классификации C. Mish [8] – при работе ручным трепаном успешность составила 100%, машинным трепаном – 70%. В области еще менее плотной кости - тип D4 – при использовании ручного трепана успешность составила 67%, машинного - 100%. В более плотной кости преимущество у машинных трепанов: 50% в D1 и 82% в D2, против 25% и 31% соответственно у ручных. В дополнение, использование машинного трепана позволяет более эффективно проводить трепан-биопсию при глубоком расположении зоны интереса в разных типах кости. В то время как ручной метод эффективен при достаточно поверхностном расположении (до 3 мм от поверхности).

Нами были отмечены несколько факторов, осложняющих проведение навигационной трепан-биопсии, которые мы обозначили как собственно осложнения. В 1й группе было зафиксировано 15 (48,39%) осложнений из 31 проведенных операций. Во 2й группе было отмечено 20 (64,52%) осложнений ($p<0.05$).

Все зафиксированные осложнения были разделены на две группы: отсутствие биоптата в просвете трепана, и затруднения при извлечении биоптата из трепана. Отсутствие биоптата в просвете трепана отмечены у 48% пациентов в 1й группе и у 45% во 2й. Трудность извлечения биоптата из трепана отмечена у 19% пациентов 2-й группы, в 1-й группе подобного осложнения не встречалось, что, по-видимому, связано с конструкционными особенностями ручных трепанов, а именно наличием специального толкателя для извлечения полученного костного фрагмента без нарушения его макростроения. Чаще всего «отсутствие биоптата в трепане» встречалось в «плотных» типах кости D1 (75% в 1й группе, 63% во 2й группе) и при типе D2 (69% - в 1й группе, 45% во 2й).

Послеоперационный период у пациентов обеих групп протекал без особенностей. Не было выявлено значительной разницы ни в зависимости от группы пациентов, ни от успешности или не успешности проведения операции. Средние значения боли у всех пациентов в 1е сутки отмечались на уровне от 2,25 до 2,37 баллов по шкале ВАШ. На 3и сутки отмечено снижение до 1,5-1,3 баллов. К 7м суткам боль не отмечалась ни у одного пациента.

Незначительное изменение конфигурации лица за счет отека мягких тканей отмечено во всех группах только на 3и сутки после операции и составило от 0,2 до 0,43 баллов. На 1е и 7е сутки отек не был отмечен ни в одной из групп.

Начальная стадия эпителизации операционной раны была отмечена на 3и сутки так же во обеих группах, и была оценена в 1 балл. Полная эпителизация была зафиксирована на седьмые сутки осмотра у всех пациентов.

Заключение

Такие образом, новый метод навигационной трепан-биопсии челюстей является эффективным и безопасным методом взятия тканей и, с учетом клинической ситуации, может быть выполнен как с использованием ручного, так и машинного трепана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егоренков В.В., Бит-Сава Е.М., Молчанов М.С. Правила забора материала для морфологического исследования (аспирационная биопсия, эксцизионная и инцизионная биопсия, трепан- биопсия, забор асцитической и плевральной жидкости, забор материала костного мозга и кости). Практическая онкология. 2017; Т. 18; No 4; 336-342. [Egorenkov V.V., Bit-Sava E.M., Molchanov M.S. Rules for sampling material for morphological research (aspiration biopsy, excisional and incisional biopsy, trephine biopsy, sampling of ascitic and pleural fluid, sampling of bone marrow and bone material). Prakt. onkologiya. 2017; 18 (4): 336–42. (In Russ.).] DOI: https://www.doi.org/10.31917/1804336
2. Cáceres Madroño E, Rodríguez Torres P, Oussama S, Zubizarreta-Macho Á, Bufalá Pérez M, Mena-Álvarez J, Riad Deglow E, Hernández Montero S. A Comparative Analysis of the Piezoelectric Ultrasonic Appliance and Trephine Bur for Apical Location: An In Vitro Study. J Pers Med. 2021 Oct 15;11(10):1034. doi: 10.3390/jpm11101034. PMID: 34683175; PMCID: PMC8541158.
3. Allen C, Nodit L. Diagnostic challenges in fine-needle aspiration of a jaw lesion. *Diagn Cytopathol*. 2021;49(10):1141-1143. doi:10.1002/dc.24857
4. Shi Y, Wang J, Ma C, Shen J, Dong X, Lin D. A systematic review of the accuracy of digital surgical guides for dental implantation. Int J Implant Dent. 2023 Oct 25;9(1):38. doi: 10.1186/s40729-023-00507-w. PMID: 37875645; PMCID: PMC10597938.
5. Панин А.М., Эктов П.В., Цициашвили А.М., Абраамян Л.К., Шехтман А.П. Новый метод навигационной трепан-биопсии структурных изменений челюстных костей. Head and neck. Голова и шея. Российский журнал Head and neck. Russian Journal. 2021;9(3):72–78 [Panin A.M., Ektov P.V., Tsitsiashvili A.M., Abraamyan L.K., Shekhtman A.P. A new method of guided trephine-biopsy of jaw bone structural changes. — Head and Neck. — 2021; 3: 72— 78 (In Russ.).]. DOI: 10.25792/HN.2021.9.3.72–78
6. Патент РФ на изобретение №2784593/28.11.2022 Эктов П.В., Панин А.М., Лежнев Д.А., Цициашвили А.М., Шехтман А.П., Абраамян Л.К. Способ навигационной трепан-биопсии челюстных костей. Ссылка активна на 19.07.2023 https://patentimages.storage.googleapis.com/ae/4b/6f/e961f88dba3e4b/RU2784593C2.pdf [RF patent for invention No. 2784593/28.11.2022 Ektov P.V., Panin A.M., Lezhnev D.A., Tsitsiashvili

A.M., Shekhtman A.P., Abramyan L.K. Method of navigational trepan biopsy of jaw bones. The link is active on 07/19/2023 https://patentimages.storage.googleapis.com/ae/4b/6f/e961f88dba3e4b/RU2784593C2.pdf]

7. Патент РФ на изобретение №2798031/14.06.2023 Эктов П.В., Панин А.М., Лежнев Д.А., Цициашвили А.М., Шехтман А.П., Абраамян Л.К. Навигационный шаблон для проведения навигационной трепан-биопсии челюстных костей. Ссылка активна на 19.07.2023 https://patentimages.storage.googleapis.com/51/8e/f7/decca570d0e53b/RU2798031C1.pdf [RF patent for invention No. 2798031/14.06.2023 Ektov P.V., Panin A.M., Lezhnev D.A., Tsitsiashvili A.M., Shekhtman A.P., Abrahamyan L.K. Navigation template for conducting navigation trepan biopsy of jaw bones. The link is active on 07/19/2023 https://patentimages.storage.googleapis.com/51/8e/f7/decca570d0e53b/RU2798031C1.pdf]
8. Миш К.Е. Ортопедическое лечение с опорой на дентальные имплантаты. пер. с англ. – 2-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2017. с143-153 [Carl E. Misch Dental Implant Prosthetics transl. from engl. Medpress-inform. 2017. p143-153]

Контактная информация

Цициашвили Александр Михайлович, д.м.н., профессор кафедры хирургической стоматологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Россия.
8-909-992-18-18
amc777@yandex.ru

УЗКОСПЕКТРАЛЬНАЯ ВИДЕО-ЭЗОФАГОСКОПИЯ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ С УВЕЛИЧЕНИЕМ В ПРЕЦИЗИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЦИЛИНДРОКЛЕТОЧНОЙ МЕТАПЛАЗИИ И РАННЕГО РАКА ПИЩЕВОДА

А.В. Шидий-Закруа[1,2], К.С. Маслёнкина[2,3], Е. Д.Федоров[1,2], С.Г. Шаповальянц[1,2], Л.М. Михалева[1,3]

[1]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва
[2]ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 31 им. академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения г. Москвы»
[3]НИИ Морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»

Введение

Цилиндроклеточная метаплазия дистального отдела пищевода (ЦМДОП) осложняет течение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) у 10-15% пациентов [1]. ГЭРБ - это адаптивная реакция на хронический воспалительный раздражитель в виде кислого и щелочного рефлюкса, ведущая к замещению плоского эпителия пищевода на ЦМДОП, что может привести к участкам малигнизации пищевода [2]. По статистике, ЦМДОП развивается у 8-15%пациентов, имеющих симптомы ГЭРБ и носит название «пищевод Барретта» (ПБ) [3]. Во время проведения эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) у пациентов с клиническими проявлениями ГЭРБ частота первичного выявления ЦМДОП проксимальнее Z-линии составляет от 0,5 до 1% [4]. Однако у ряда пациентов отсутствие специфической клинической симптоматики характерной для ГЭРБ, и ЦМДОП обнаруживается у них в 0,36% случаев [5] при выполнении ЭГДС по иным показаниям в плановом порядке, либо во время неотложной диагностики, в частности, желудочно-кишечных кровотечений (ЖКК).

ЦМДОП несет ежегодный риск (0,12- 0,5%) трансформации железистой метаплазии в аденокарциному пищевода (АПК) [6]. На сегодняшний день сохраняющийся в мире повышенный интерес к ЦМДОП обусловлен тем, что рак пищевода находится на 6-м месте в структуре мировой смертности от злокачественных заболеваний [7], а по сравнению с общей популяцией риск развития АК при ЦМДОП увеличивается в 20-60 раз [8]. Наибольшая распространенность АКП наблюдается в западных промышленных странах, в связи с чем ЦМДОП становится объектом пристального внимания. Риск развития АКП у пациентов с ЦМДОП без дисплазии составляет 0,12-0,33%; у пациентов с дисплазией низкой степени риск растет и составляет 1,83-9,1% [9]. У пациентов с подтверждённой тяжелой дисплазией риск малигнизации по данным разных авторов составляет от 19% до 60% [10, 11], а японские специалисты склонны сразу относить тяжёлую неоплазию к раннему раку.

В 2006 г. были опубликованы данные Всемирного консенсуса, известные как Монреальское

определение и классификация ГЭРБ . Согласно Монреальскому определению, диагноз ПБ устанавливается при выявлении в ходе эндоскопического исследования участков, подозрительных на метаплазию слизистой оболочки пищевода, и подтверждении при последующем гистологическом исследовании цилиндрической метаплазии. Диагноз правомерен как при наличии, так и при отсутствии фокусов кишечной метаплазии в билотате [12]. При этом подчеркивается, что только морфологически подтвержденная кишечная метаплазия рассматривается как предраковое состояние, таким образом, в окончательном диагнозе необходимо указывать тип метаплазии – желудочная или кишечная метаплазия в сигменте ПБ.

Несмотря на актуальность заболевания, термин ПБ до сих пор специалистами трактуется весьма вариабельно, что приводит к определенной терминологической путанице. Определение Американского общества гастроэнтерологов в понятие ПБ включает только морфологически подтвержденную кишечной метаплазии[13], тогда как Британское общество гастроэнтерологов вновь отмечает, что наличие кишечной метаплазии необязательно для постановки диагноза [14]. Так же велись споры касаемо длины сегмента ПБ. Короткий сегмент ЦМДОП считается (от 1 до 3 см) и длинный сегмент (более 3 см) ЦМДОП кишечного типа, которые все специалисты безоговорочно трактуют как «истинный» пищевод Барретта (ПБ), служат предвестниками АКП, увеличивая риск ее развития в 30-125 раз [10]. Для европеоидной расы это утверждение, в целом, справедливо. В Британских клинических рекомендациях [15] было предложено вообще не выделять такое понятие как «ультракороткий сегмент ПБ». Такой подход нашёл немало сторонников ещё и потому, что отличить высокоамплитудную Z-линию от ультракоротких язычков железистой метаплазии при ЭГДС не всегда легко. Но не все специалисты полностью согласны с этим мнением, так как по их данным до 49% АКП в Японии, например, развиваются именно из ультракороткого сегмета ЦМДОП [16]. Тем не менее, общемировой консенсус по ключевым ориентирам, определению и классификации пищевода Барретта, утверждённый на Всемирном конгрессе в Рио де Жанейро в 2020г. и опубликованный в 2022г. в журнале «Gastroenterology» [17] дал следующее определение ПБ: «цилиндроклеточная (железистая) метаплазия пищевода, распространяющаяся, как минимум на 1 см выше пищеводно-желудочного перехода с подтверждённой в биоптатах кишечной метаплазией». Следует отметить, что 10% ведущих экспертов мира не согласились с этим определением в процессе голосования, так как наличие у пациента ЦМДОП пищевода по желудочному типу, в том числе менее 10 мм длиной, не исключает её перерождения в АКП, хотя это и случается намного реже [18, 19].

Верификация кишечной метаплазии и дисплазии с помощью щипцовой биопсии затруднена, ЦМДОП носит очаговой характер и неоднородно распределены в сегменте метаплазии. В попытке преодолеть эту проблему в 2000 г. был разработан Сиэтлский протокол

«скрининговой» эндобиопсии. Считалося долгое время «золотым стандартом» диагностики ПБ эндоскопическое исследование с выполнением четырехквадрантных «слепых» биопсий на протяжении каждого сантиметра по длине сегмента метаплазии. Однако даже при строгом соблюдении данной методики, участки кишечной метаплазии и ранней аденокарциномы могут остаться пропущенными; сам протокол достаточно инвазивен, требует существенных временных затрат, как при взятии материала, так и при его изучении в отделении патологической анатомии [20]. В реальной клинической практике, даже в странах с развитой системой здравоохранения, Сиэтлский протокол соблюдается лишь у 26-77% пациентов [21, 22], что заставляет искать более надёжные методы диагностики.

С целью улучшения визуализации и трактовки макроскопической картины в настоящее время используют ряд современных эндоскопических методик, таких как хромоэндоскопия, эндоскопия с увеличением, узкоспектральное исследование (NBI). Поверхность слизистой оболочки пищевода и сосудистый рисунок могут знчительно варьировать при ЦМДОП. Перспективным направлением выявления дисплазии и участков малигнизации являюся ЭГДС с использованием уеличительной эндоскопии и оптической хромоэндоскопии. С появлением этой высокотехнологичной эндоскопической аппаратуры и началом её использования для прогнозирования патогистологии при ПБ, активно разрабатывались критерии интерпретации эндоскопической картины высокой чёткости, полученной в условиях прижизненного освещения тканей в сине-зелёном спектре света, что привело к созданию в 2016г. классификации BING (The Barrett International NBI Group). BING продемонстрировала достаточно высокую точность - 85%, чувствительность - 80%, специфичность - 88%, ППС - 81%, ОПС - 88% в руках авторов [23]. Также для усиления визуализации микроструктуры поверхности сегмента ЦМДОП и обнаружения участков неоплазии было предложено применять хромоэндоскопию 2,5% раствором уксусной кислоты; как результат систематизации полученных данных в 2017г. была создана классификация PREDICT [24], существенно повысившая чувствительность эндоскопической диагностики неоплазии в сегменте ПБ. Ещё более детальную характеристику выявленных при эзофагоскопии патологических участков, а соответственно, повышение уровня чувствительности, специфичности и точности эндоскопической диагностики обеспечивает метод оптического увеличения эндоскопического изображения (х70-80) в режиме близкого фокуса.

Эндоскопическая диагностика наличия ЦМДОП, а особенно выявление дисплазии и ранеей АКП остается крайне актуальной задачей [25]. Эндоскопическое исследование высокого разрешения с увеличением, виртуальной и реальной хромоэндоскопией и созданные на их основе классификации BING и PREDICT, обещают существенно повысить точность диагностики ЦМДОП и ранней неоплазии; уменьшить время исследования, сократить количество диагностических ошибок, усовершенствовать алгоритм ведения и лечения пациентов с ЦМДОП

[25]. Новые классификации позволяют увеличить диагностическую точность проводимых процедур. Однако эти диагностические методики требуют проверки и верификации в реальной клинической практике. Стремительно развивающиеся системы поддержки принятия врачебного решения (искусственного интеллекта) также нуждаются в тщательно верифицированных эндоморфологических комплектах больших данных для эффективного самообучения нейросетей и последующего анализа видеоизображений.

Цель исследования. Определение возможностей инновационных методов для повышения точности эндоскопической диагностики разновидностей ЦМДОП и дисплазии у пациентов с осложнённым течением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ).

Материал и методы исследования

В исследование проводилось в нашей Клинике с января 2017г. по сентябрь 2022г. В работы были включены 131 пациент - 69 (52,7%) мужчин и 62 (47,3%) женщины - в возрасте от 18 до 84 лет (средний возраст 55,8±16,7 лет), которые поступали в плановом и неотложном порядке в стационар. С подтверждённым диагнозом - ГЭРБ, осложнённая развитием ЦМДОП (табл.1). ЦМДОП ультрокороткий сегмент (>1 см) был выявлен у 26/131 (19,9%) пациентов; короткий (от 1 до 3 см) – у 47/131 (35,9%); длиный сегмент (более 3 см) – у 58/131 (44,3%) пациентов (табл.1). ГЭРБ и ЦМДОП были верифицированы до поступления в стационар у 46/131 (35,1%) пациентов. У остальных больных85/131 (64,9%) ЦМДОП было впервые обнаруженно при обследовании, в т.ч. у 51/131 (38,9%) - при плановой ЭГДС. Ещё у 34/131 (26,0%) пациентов ЦМДОП было заподозрена/выявлена при экстренной ЭГДС, выполненной у пациентов, поступивших в стационар в неотложном порядке.

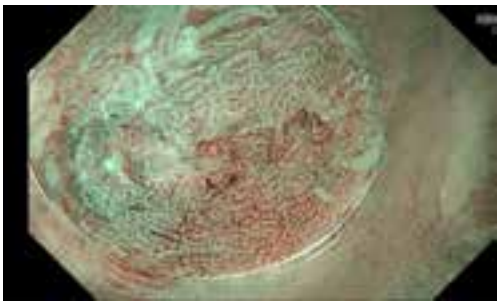
При детальном анализе жалоб и анамнеза больных, проявления ГЭРБ клинические не прослеживались у 47/131 (35,9%) из них (табл.1). Характерные клинические ГЭРБ симптомы (изжога, отрыжка, одинофагия, боли в эпигастрии и за грудиной) отметились у 76/131 (58,0%)больного. Внепищеводные проявления ГЭРБ (кашель в ночное время суток, отралгия, ларингит) имелись у 53/131 (40,5%) пациентов, причём отралгия встречалась тем чаще, чем более длинный сегмент железистой метаплазии был диагностирован у пациентов (УКС - 7,7%, КС – 23,4%, ДС – 36,2%) (табл. 1). У 41 (48,8%) из 84 пациентов с клиническими проявлениями ГЭРБ её внепищеводные проявления сочетались с классическими; у 31/84 (36,9%) пациента прослеживались только классические «пищеводные» симптомы; и у 12/84 (14,3%) пациентов – только внепищеводные.

Таблица 1. Пол, возраст и основные клинические симптомы у пациентов с ГЭРБ, осложнённой развитием ЦМДОП

Характеристика		Все пациенты	Длина сегмента ЦМДОП			P
		n = 131	Ультра-короткий n = 26	Короткий n = 47	Длинный n = 58	
Возраст		55,8±16,7	**52,1±18,9**	**53,6±15,7**	**59,4±16,1**	**0.07**
Пол	**Мужской**	69 (52,7%)	16 (61,5%)	19 (40,4%)	34 (58,6%)	**0.19**
	Женский	62 (47,3%)	10 (38,5%)	28 (59,6%)	24 (41,4%)	
Бессимптомная ГЭРБ		**47 (35,9%)**	**10 (38,5%)**	**16 (34,0%)**	**21 (36,2%)**	0.59
Пищеводные проявления ГЭРБ		**76 (58,0%)**	**14 (53,8%)**	**26 (55,3%)**	**36 (62,1%)**	0.70
Изжога		75 (57,3%)	15 (57,7%)	26 (55,3%)	34 (58,6%)	0.93
Отрыжка		31 (23,7%)	8 (30,8%)	9 (19,1%)	14 (24,1%)	0.83
Одинофагия		10 (7,6%)	1 (3,8%)	2 (4,3%)	7 (12,1%)	**0.03**
Боли		48 (36,6%)	11 (42,3%)	15 (31,9%)	22 (37,9%)	0.67
Внепищеводные проявления ГЭРБ		**53 (40,5%)**	**7 (26,9%)**	**17 (36,2%)**	**29 (50,0%)**	0.92
Кашель ночью		40 (30,5%)	6 (23,1%)	13 (27,7%)	21 (36,2%)	0.42
Оталгия		34 (26,0%)	2 (7,7%)	11 (23,4%)	21 (36,2%)	0.22
Ларингит		9 (6,9%)	1 (3,8%)	4 (8,5%)	4 (6,9%)	0.51

Эндоскопическое исследование верхних отделов пищеварительного тракта Основным методом диагностики ЦМДОП является ЭГДС, позволяющая визуально оценить состояние слизистой оболочки пищевода и выполнить биопсию для морфологического исследования. Всем пациентам выполнено ЭГДС с использованием видеоэндоскопической системы EVIS EXERA III и эндоскопов GIF H180, GIF-H190, GIF-HQ190 (Olympus, Япония). Исследования выполняли в условиях внутривенной анестезии с сохранением самостоятельного дыхания пациентов. В подготовку к исследованию входил пероральный приём пеногасителей

(симетикон) и муколитиков (ацетилцистеин). Первоначально осмотр проводился в белом свете с высоким разрешением с применением колпочка это позволят детально осмотреть каждый участог метаплазированого сегмента. При выполнении эзофагоскопии в белом свете акцент делался на индивидуальные особенности топографического расположения пищевода и желудка, а также оценивалась их физиологическая функция. Особое внимание уделялось выявлению ЦМДОП, наличию или отсутствию изменений её структуры. Протяжённость ЦМДОП оценивали по Пражским критериям [23]. Структуру ямочного и микрососудистого рисунка оценивали спримененим классификационой системы BING, согласно которой при виртуальнойхромоэндоскопии (NBI) микроструктура метаплазированной слизистой оболочки делится на 2 принципиальных типа - регулярный (без дисплазии) и нерегулярный (характерный для дисплазии или АКП). При обнаружении нерегулярного типа структуры эпителия намечали участки для выполнения прицельной щипцовой биопсии (Рис. 1А, Рис. 1В).
(Рис. 1А, Рис. 1В).

	
Рис. 1А. Осмотр в режиме NBI+Dual Focus. Измененный сосудистый и эпителиальный рисунок	**Рис. 1В.** Осмотр в режиме NBI+Dual Focus. Измененный сосудистый и эпителиальный рисунок
Рис. 2А. Осмотр с применением хромоскопии уксусной кислотой 2,5%. Эпителиальный рисунок отсутствует, тяжелая дисплазия.	**Рис. 2В.** Осмотр с применением хромоскопии уксусной кислотой 2,5%. Эпителиальный рисунок частично отсутствует, тяжелая дисплазия.

Завершающим этапом уточняющей эндоскопической диагностики было окрашивание метаплазированного сегмента 2,5% раствором уксусной кислоты - ацетобеление. Для оценки данного метода применялась классификационная система PREDICT. Данная диагностическая

методика основана на том, что происходит окрашивание слизистой оболочки ЦМДОП в белый цвет, отек слизистой, во-первых, делает структуру ямочного рисунка цилиндроклеточного эпителия более рельефной, подчёркивая структуру нерегулярных участков (в частности, с диспластическим эпителием). Но ещё более важно то, что участки неоплазии освобождаются от уксусной кислоты существенно раньше, чем окружающая их метаплазированная слизистая оболочка. Таким образом они выглядят розовыми или красными на белом фоне и именно из этих патологических участков выполняется прицельная щипцовая биопсия (Рис. 2А, Рис. 2В). Завершающим этапом диагностической программы была щипцовая биопсия слизистой оболочки метаплазированного сегмента по Сиэтлскому протоколу. Биоптаты забирались из 4х противоположных точек на каждом уровне сегмента ЦМДОП с шагом в 1 сантиметр при наличии неопластических изменений и наг 2 сантиметра при отсутствии видимых изменений. Корректировку картирования точек биопсии, в соответствии с результатами виртуальной и реальной хромоэндоскопии, не проводили. В процессе гистологической верификации осмотр препаратов проводили 3 морфолога; затем проводили сравнение эндоскопической верификации участка дисплазии и его морфологической оценки.

Прижизненное патолого-анатомическое исследование. Фрагменты, полученные при биопсии, помещались в забуференный нейтральный 10% раствор формалина для фиксации и после стандартной гистологической проводки заливали в парафиновые блоки. Гистологические срезы толщиной 3-4 мкм были изготовлены с использованием ротационных микротомов Sacura и окрашены гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование антител к MUC2, MUC5AC, MUC6, p16, p53, Ki67, cyclin D1, β catenin и AMACR проводилось с помощью иммуностейнеров «Leica Bond maX» (Germany) и Ventana Bench Mark Ultra» (USA). Интерпретация результатов ИГХ исследования с указанными антителами осуществлялась с учетом локализации позитивных клеток (в поверхностном эпителии и в криптах, в участках дисплазии и вне этих участков) путем подсчета как количества окрашенных эпителиальных клеток на 100 клеток в 10 полях зрения (увеличение 400), так и интенсивности окрашивания. Полученные количественные результаты выражали в процентах. Полуколичественная оценка выраженности экспрессии производилась в баллах, где 0 - экспрессия в 0-4% клеток, +1 - экспрессия в 5-50%, +2 экспрессия в 51-75% и +3 экспрессия в >75% клеток. Для Ki67 выраженность экспрессии оценивалась следующим образом: 0 - экспрессия в 0-20% клеток, +1 - экспрессия в 21-50%, +2 -экспрессия в 51-75%, +3 - экспрессия в >75% клеток. Интенсивность экспрессии маркеров оценивалась в баллах, где 0 - отсутствие экспрессии, 1 - слабое окрашивание клеток, 2 - умеренное окрашивание, 3 - интенсивное (яркое) окрашивание клеток.

В наблюдениях с наличием кишечной метаплазии проводили морфометрический подсчет плотности бокаловидных клеток в железах: при наличии бокаловидных клеток, занимающих

менее 5% от всех эпителиоцитов в железах, пациентов относили к подгруппе с единичными бокаловидными клетками; от 5 до 50% - к подгруппе с низкой плотностью; более 50% - к подгруппе с высокой плотностью бокаловидных клеток.

Статистическая обработка данных. Анализ данных проводился с использованием среды для статистических вычислений R 3.6.3 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) и дополнительных пакетов epiR 1.0-14, irr 0.84.1 и emmeans 1.4.8. Описательные статистики для категориальных переменных представлены в виде абсолютных и относительных частот (процентные доли, %), для количественных – в виде среднего (стандартное отклонение) и медианы (1-ый и 3-ий квартили). Для изучения связи категориальных переменных использовался тест $\chi 2$, ассоциацию считали статистически значимой при $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам эндо-морфологической диагностики неоплазия в сегменте ЦМДОП была выявлена у 36/131 (27,5%) пациентов, в том числе аденокарцинома пищевода у 4 из них (табл. 1). Дисплазия у пациентов с ультра коротким и коротким сегментом ЦМДОП выявлялась реже по сравнению с пациентами с длинным сегментом ($p=0.0001$). Тем не менее, у 1 пациента с ультракоротким сегментом ЦМДОП, на фоне метаплазии желудочного типа была диагностирована аденокарцинома, что лишний раз доказывает разнообразие морфологического пейзажа и необходимость комплексного эндо-морфологического обследования бальных и с ультракоротким сегментом ЦМДОП.

Таблица 2. Результаты морфологической диагностики характера дисплазии/аденокарциномы, в зависимости от длины сегмента ЦМДОП

Характеристика	**Длина сегмента железистой метаплазии**			**Все пациенты**
	Ультракороткий n = 26	**Короткий n = 47**	**Длинный n = 58**	**n = 131**
Лёгкая дисплазия	4 (15,4%)	3 (6,4%)	20 (34,5%)	27 (20,6%)
Тяжёлая дисплазия	–	1 (2,1%)	4 (6,9%)	5 (3,8%)
Аденокарцинома	1 (3,8%)	-	2 (3,4%)	3 (2,3%)
Н/д аденокарцинома	–	–	1 (1,7%)	1 (0,8%)
Всего	5 (19,2%)	4 (8,5%)	27 (46,5%)	36 (27,5%)

Взятие биопсии с использованием Сиэтлского протокола было выполнено у всех обследованных пациентов, но только у 9/131 (6,9%) из них были выявлены диспластические

изменения дистального отдела пищевода: лёгкая степень дисплазии была выявлена у 8/9 пациентов, тяжёлая степень только у 1/9 пациента. Сравнительные характеристики изучаемых классификаций и методик взятия биопсии в диагностике дисплазии представлены в табл. 2. Наибольшей точностью, чувствительностью и специфичностью обладали методики PREDICT и BING, существенно превосходящие аналогичные показатели при использовании Сиэтлского протокола. В целом при применении Сиэтлского протокола наблюдался низкий уровень специфичности, точности и чувствительности.

Таблица 3. Характеристика информативности методов эндоскопической диагностики дисплазии/ аденокарциномы, в ЦМДОП

Методы	Чувствительность	Специфичность	Точность
Сиэтлский протокол	76,8%	31,2%	54,5%
BING	90,5%	86,7%	88,9%
PREDICT	91,3%	100%	95,3%

Заключение. Эзофагоскопия высокого разрешения с увеличением детерминированной цифровой оптикой с применением NBI хромоэндоскопией и использованием современых классификационных систем BING и PREDICT, в сочетании с морфологическим иммуногистохимическим исследованием, с высокой степенью достоверности – (точность 96%, чувствительность - 92% и специфичность - 98%) даёт возможность диагносцировать разновидности цилиндроклеточной метаплазии слизистой оболочки пищевода и дисплазию лёгкой и высокой степени, раннию аденокарциному пищевода по сравнению с Сиэтлским протоколом скрининговой поэтажной биопсии, (общая диагностическая точность 54,5%, чувствительность - 76,8%, специфичность - 31,2%.)

Использование классификаций «BING» и «PREDICT», обеспечивая маркировку компрометированных участков что позволяет осуществлять прицельный забор биопсийного материала из участков слизистой оболочки, специфичных по наличию дисплазии. При сочетанном использовании «BING» и «PREDICT», специфичность остаётся максимальной (100%), чувствительность возрастает до 92,0%, а точность до 96,0%. Немаловажно и то, что использование «BING» и «PREDICT» позволяет увидеть наличие видимых очагов дисплазии, по сравнению с Сиэтлским протоколом, что дает возможность прецизионно взять биопсию снижая травматизацию слизистой и подслизистой оболочки пищевода и риск развития артифициальных осложнений и фиброза подслизистого слоя.

Выводы. Узкоспектральная видео-эзофагоскопия высокого разрешения с увеличением в прецизионной диагностике цилиндроклеточной метаплазии и раннего рака пищевода, позволяет не только гарантированно диагностировать наличие и протяжённость сегмента метаплазии, но и с точностью 87,8% определить тип цилиндроклеточной метаплазии у пациентов с осложнённым течением ГЭРБ, а также предсказать наличие дисплазии и раней аденокарциномы у этих пациентов с чувствительностью 91,3% и специфичностью 100%. Прицельная щипцовая биопсия в сочетании с морфологическим иммуногистохимическим исследованием, с более высокой степенью достоверности - с точностью 96%, чувствительностью - 92% и специфичностью - 98% даёт возможность диагносцировать разновидности железистой метаплазии и дисплазии слизистой оболочки пищевода по сравнению с Сиэтлским протоколом скрининговой поэтажной биопсии. Достоверная диагностика протяжённости и типа железистой метаплазии слизистой оболочки пищевода, раннее выявление неопластических изменений обеспечивают своевременный выбор адекватной лечебной тактики у пациентов с осложнённым течением ГЭРБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma P, Bergman JJ, Goda K, et al. Development and validation of a classification system for detecting esophageal dysplasia and adenocarcinoma in Barrett's esophagus using narrow-band imaging. Gastroenterology 2016; 150: 591-8.

2. Kandiah K, Chedgy FJQ, Subramaniam S, Longcroft-Wheaton G, Bassett P, Repici A, Sharma P, Pech O, Bhandari P. International development and validation of a classification system for the identification of Barrett's neoplasia using acetic acid chromoendoscopy: the Portsmouth acetic acid classification (PREDICT). Gut. 2018 Dec;67(12):2085-2091. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314512. Epub 2017 Sep 28. PMID: 28970288.

3. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С. Пищевод Барретта // М: Издательство «Шико». – 2011. – 608 с.

4.Rex DK, Cummings OW, Shaw M, Cumings MD, Wong RK, Vasudeva RS, Dunne D,Rahmani EY, Helper DJ. Screening for Barrett's esophagus in colonoscopy patients with and without heartburn. Gastroenterology. 2003 Dec;125(6):1670-7. PubMed.

4. Kariv R., Plesec P. T., Goldblum R. J., et al. The Seattle Protocol Does Not More Reliably Predict the Detection of Cancer at the Time of Esophagectomy Than a Less Intensive Surveillance Protocol. CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY. 2009; 7: 653–658.

5. Shaheen N. J., Falk G. V., Ayer P. G., Gerson L. B.; American College of gastroenterology. ACG clinical guide: diagnosis and treatment of Barrett's esophagus. Am J Gastroenterol. 2016; 111 : 30–50.

5. Wani S, Falk GW, Post J, et al. Risk factors for progression of low-grade dysplasia in patients with Barrett's esophagus. Gastroenterology. 2011; 141 (4): 1179–1186. PMID: 21723218.
6. Kariv R., Plesec P. T., Goldblum R. J., et al. The Seattle Protocol Does Not More Reliably Predict the Detection of Cancer at the Time of Esophagectomy Than a Less Intensive Surveillance Protocol. CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY. 2009; 7: 653–658.
7. Crew K.D., Neugut A.I. Epidemiology of upper gastrointestinal malignancies. // Semin.Oncol. – 2004. – Vol. 31. – P. 450 – 464..
8.Cameron A.J. Epidemiology of Barrett's esopha Esophagus 2002. – Vol.5. – №2. – P. 106 – 108.
9. Sharma P. Clinical practice. Barrett's esophagus. N Engl J Med. 2009; 361: 2548-2556
10. Rastogi A, Puli S, El-Serag HB, etc. Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia: meta-analysis. Gastrointest Endosc 2008; 67: 394-8.
11. Wang K. K., Sampliner R. E. Diagnosis, Surveillance and Therapy of Barrett's Esophagus //Am J Gastroenterol. – 2008. – T. 103. – C. 788-797.
12. Fitzgerald R.C., di Pietro M., Ragunath K. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. Gut. 2014. 63. P. 7-42.
13. Takubo K, Aida J, Naomoto Y, et al. Cardiac rather than intestinal type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma. Hum Pathol. 2009; 40 (1): 65–74. PubMed PMID: 18755496.
14. Rio de Janeiro Global Consensus on Landmarks, Definitions, and Classifications in Barrett's Esophagus: World Endoscopy Organization Delphi Study. Fabian Emura, Viveksandeep Thoguluva Chandrasekar, Cesare Hassan et al., Gastroenterology 2022;163 (1):84–96.e2.
15. Lavery DL, Martinez P, Gay LJ, Cereser B, et al. Evolution of oesophageal adenocarcinoma from metaplastic columnar epithelium without goblet cells in Barrett's oesophagus. Gut. 2016; 65 (6): 907–16. PubMed PMID: 26701877.
18. Levine DS, Haggitt RC, Blount PL, et al. An endoscopic biopsy protocol can differentiate high-grade dysplasia from early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. Gastroenterology 1993;105.
19. Sharma P, McQuaid K, Dent J, et al. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the AGA Chicago workshop. Gastroenterology 2004. 127:310–30.
20. Abrams J, Kapel R, Lindberg G, Saboorian M, Genta R, Neugut A, Lightdale C. Adherence to biopsy guidelines for Barrett's esophagus surveillance in the community setting in the United States. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2009;7(7):736-710.
21. Visrodia K, Singh S, Krishnamoorthi R, Ahlquist DA, Wang KK, Iyer PG, Katzka DA. Magnitude of Missed Esophageal Adenocarcinoma after Barrett's Esophagus Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis. Gastroenterology. 2016;150(3):599-e15.

22. Белова Г.В., Руденко О.С. Эндоскопическая анатомия пищеводно-желудочного перехода в норме, при хиатальных грыжах и цилиндроклеточной метаплазии слизистой оболочки пищевода. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017. № 8 (144). С. 52-54.
23. Sharma P, Dent J, Armstrong D et al. The Development and Validation of an Endoscopic Grading System for Barrett's Esophagus: The Prague C & M Criteria. Gastroenterology. 2006; Vol. 131(5): P.1392–1399.
24. Inoue H., Fujiyoshi Y., Abad M. R. A. et al. A novel endoscopic assessment of the gastroesophageal junction for the prediction of gastroesophageal reflux disease: a pilot study. Endoscopy International Open. 2019. Vol. 07(11). P. E1468–E1473.
23. Inoue H, Shimamura Y, Rodriguez de Santiago E, Kobayashi Y, Ominami M, Fujiyoshi Y, Sumi K, Ikeda H, Onimaru M, Anastassios C. Manolakis. Diagnostic performance of the endoscopic pressure study integrated system (EPSIS): a novel diagnostic tool for gastroesophageal reflux disease. Endoscopy. 2019. Vol. 51: P. 759–762.
24. Weusten B, Bisschops R, Coron E, Ribeiro M, Dumonceau JM, Esteban LM, Hassan C, Pech O, Repici A, Bergman J. Endoscopic management of Barrett's esophagus: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Position Statement. Endoscopy 2017. Vol. 49.
25. Ивашкин В.Т., Маев В.И., Трухманов А.С., Баранская Е.К., Дронова О.Б., Зайратьянц О.В., Сайфутдинов Р.Г., Шептулин А.А., Лапина Т.Л., Пирогов С.С., Кучерявый Ю.А., Сторонова О.А., Андреев Д.Н. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2017. 1027(1004):1075-1095.

КАРДИОТОКСИЧНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Г.В. Шолохов[1], С.О. Кузин[1], Д.Г. Хайманова[1], Д.И. Козлова[3,4]

Научный руководитель: д.м.н., проф. М.Ф. Баллюзек[1,2]

[1] ФГБУЗ Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

[2]Санкт-Петербургский государственный университет, медицинский факультет, Санкт-Петербург, Россия

[3]ФГБУЗ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» МЗ РФ

[4]ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН

Ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ) – новый метод противоопухолевой иммунотерапии, который широко применяется для лечения ранее трудноизлечимых злокачественных новообразований.

Однако, широкое применение ИИКТ-терапии стало выявлять разнообразные иммуноопосредованные кардиотоксические нежелательные явления (иНЯ) от достаточно редких, но потенциально жизнеопасных (фульминантный миокардит), до малосимптомных вариантов течения, которые нередко приводят к развитию дилатационной кардиопатии, аритмиям, сердечной недостаточности.

Актуальным является поиск новых маркеров диагностики, факторов риска развития кардиотоксических иНЯ, алгоритмов ведения пациентов, особенно определение показаний к возможному возобновлению иммунотерапии после кардиотоксического иНЯ. Своевременную дифференциальную диагностику, разработку стратегий профилактики, обоснованного оптимального лечения, реабилитационной поддержки онкологического пациента возможно осуществить только при условии быстрой организации междисциплинарных команд с участием кардиологов/кардиоонкологов и других специалистов.

С целью выполнения задач по разработкам таких стратегий на первом этапе НИОКТР по теме «Разработка и внедрение алгоритмов прогнозирования, диагностики и лечения кардиотоксических осложнений иммунотерапии у онкологических пациентов» в многопрофильном стационаре СПб больницы РАН на базе онкологического и кардиологического отделений проведено сравнение частоты развития и характера течения иНЯ со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов, получающих иммунотерапию

с развитием кардиологических НЯ у пациентов, получающих лечение химиопрепаратами высокого и очень высокого кардиотоксического риска.

Использовались современные инструментальные методы обследования – метод глобальной продольной деформации (GLS), являющийся чувствительным маркером сердечной токсичности у пациентов, метод кардиомагнитного резонанса (CMR), при необходимости методы внутрисосудистой визуализации для определения состояния сосудистой стенки и коронарного кровоснабжения на фоне иммунотерапии. Начато изучение цитокинового профиля онкологических больных для уточнения генеза развившегося НЯ и уточнения его иммунной природы.

Прослежено развитие ранних и отсроченных кардиотоксических осложнений и их сочетания с другими иНЯ. Показана внедренная в клиническую практику работа междисциплинарной кардио-онкологической команды.

АССОЦИАЦИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ВЕЗИКУЛЯРНЫХ микроРНК МОЧИ С ТЕРАПИЕЙ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.В. Шутко[1,2], Г. Саллум[2], О.Е. Брызгунова[2], М.Ю. Коношенко[2]

[1]ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

[2]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) традиционно занимает лидирующие позиции по заболеваемости среди мужчин во всем мире и в настоящее время делит первое место по данному показателю совместно с раком легких [1]. Методы терапии РПЖ весьма разнообразны (хирургическое лечение – радикальная простатэктомия (РПЭ), лучевая терапия (ЛТ), химиотерапия и другие, а также сочетание нескольких видов лечения), но подбор корректного и наиболее эффективного метода для каждого отдельно взятого пациента остается проблемным вопросом [2]. Кроме того, РПЖ является рецидивирующим заболеванием, и примерно в трети всех случаев в течение пяти лет после терапии наблюдается рецидив рака [3]. Для прогноза течения заболевания и предсказания рецидива РПЖ после терапии на сегодняшний день в клинической практике используют следующие показатели: уровень и плотность сывороточного простатспецифического антигена (ПСА), патологоанатомическая стадия, сумма Глисона, характер хирургического края (в случае хирургического лечения), объем опухоли и другие [4]. Тем не менее, используемые показатели характеризуются низкой чувствительностью и специфичностью, поэтому актуальной задачей является поиск новых молекулярных маркеров.

К перспективным маркерам онкологических заболеваний относят микроРНК, особенно в составе внеклеточных везикул (ВВ) мочи, поскольку ВВ защищают микроРНК от действия нуклеаз и увеличивают тем самым время их циркуляции в биологических жидкостях, а также ВВ мочи позволяют более селективно отбирать и анализировать микроРНК простатического (то есть опухолевого) происхождения [5].

Цель. Исследование динамики экспрессии 14-ти микроРНК (hsa-miR-19b, -22-3p, -30e, -31, -92a, -125b, -144, -200b, -205, -222, -375, -378a, -425, -660) ВВ мочи больных РПЖ после РПЭ и ЛТ и поиск прогностически значимых пар микроРНК.

Материалы и методы. Исследованы образцы мочи здоровых доноров и больных РПЖ, полученные до РПЭ или ЛТ (Таблица 1) и через 3 месяца после терапии. От всех пациентов и доноров получены информированные добровольные согласия на проведение исследований. Работа одобрена этическим комитетом ФГБУ ИХБФМ СО РАН (протокол №10 от 22 декабря 2008). Дополнительную терапию до и после РПЭ или ЛТ пациенты не получали. Образцы мочи получены из НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. ВВ были выделены методом агрегации-

преципитации [6]; микроРНК ВВ выделяли с использованием стекловолокнистых сорбентов и октановой кислоты по ранее разработанной методике [7]. С помощью ОТ-ПЦР получены данные о пороговых циклах детекции 14-ти микроРНК, вовлеченных в канцерогенез предстательной железы (ПЖ) и отобранных для исследования на основе биоинформатического анализа и литературы. Статистическая обработка данных была выполнена в программе MedCalc Statistical Software.

Таблица 1. Характеристика групп доноров и больных РПЖ

	Кол-во доноров	**Возраст, диапазон и среднее ± станд. откл.**	**ПСА, нг/мл, среднее ± станд. откл.**	**Стадия по системе TNM, доля в процентах**			**Стадия по шкале Глисона, доля в процентах**				
				T1N0M0	**T2N0M0**	**T3N0M0**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
Здоровые доноры (ЗД)	18	45-60 52,9 ± 5,2	0,7 ± 0,5								
Пациенты с РПЖ до РПЭ	22	48-74 61,4 ± 7,7	9,0 ± 2,8	55	36	9	-	73	14	9	4
Пациенты с РПЖ до ЛТ	17	54 - 77 62,0 ± 5,5	8,5 ± 1,0	27	73	-	9	27	64	-	-

Результаты и их обсуждение. Для корректной обработки полученных данных использовали метод парной нормировки [8, 9], то есть рассматривали не значения циклов детекции каждой микроРНК, а их попарное соотношение внутри одного сета (всего сетов микроРНК было два – по 9 и 8 микроРНК в каждом). Таким образом, было получено 60 различных пар микроРНК.

В первую очередь для дальнейшего анализа были отобраны пары микроРНК, уровни относительной экспрессии которых достоверно различались у доноров и больных РПЖ, то есть имели диагностическое значение. Отбор производился при помощи однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Далее, среди данных пар с использованием дисперсионного анализа повторных измерений были выявлены 22 и 41 пара микроРНК, достоверно изменивших экспрессию после лечения – РПЭ и ЛТ соответственно. Для анализа динамики экспрессии этих пар микроРНК спустя 3 месяца после терапии были построены точечные диаграммы, иллюстрирующие ход изменения уровней экспрессии. Наиболее перспективные пары микроРНК – потенциальные маркеры эффективности терапии – выбирали на основе сравнения уровня экспрессии пар микроРНК доноров и больных РПЖ до и через 3 месяца после РПЭ или ЛТ. На основе этого сравнения, среди всех исследованных пар микроРНК можно выделить три группы с различным паттерном динамики относительной экспрессии микроРНК:

1. Пары, уровень экспрессии которых достоверно различался между донорами и больными РПЖ до РПЭ или ЛТ и достоверно изменялся у больных через 3 месяца после РПЭ или ЛТ по направлению к уровню здоровых доноров или достигал такового (10 и 23 пары для РПЭ и ЛТ соответственно) (Рисунки 1 и 2);
2. Пары, уровень экспрессии которых достоверно различался между донорами и больными РПЖ до РПЭ или ЛТ и достоверно изменялся у больных через 3 месяца после РПЭ или ЛТ по направлению, противоположному уровню здоровых доноров (1 и 4 пар) (Рисунок 3);
3. Пары, достоверно не изменявшие свою экспрессию через 3 месяца после терапии согласно критериям, описанным выше (11 и 14 пар).

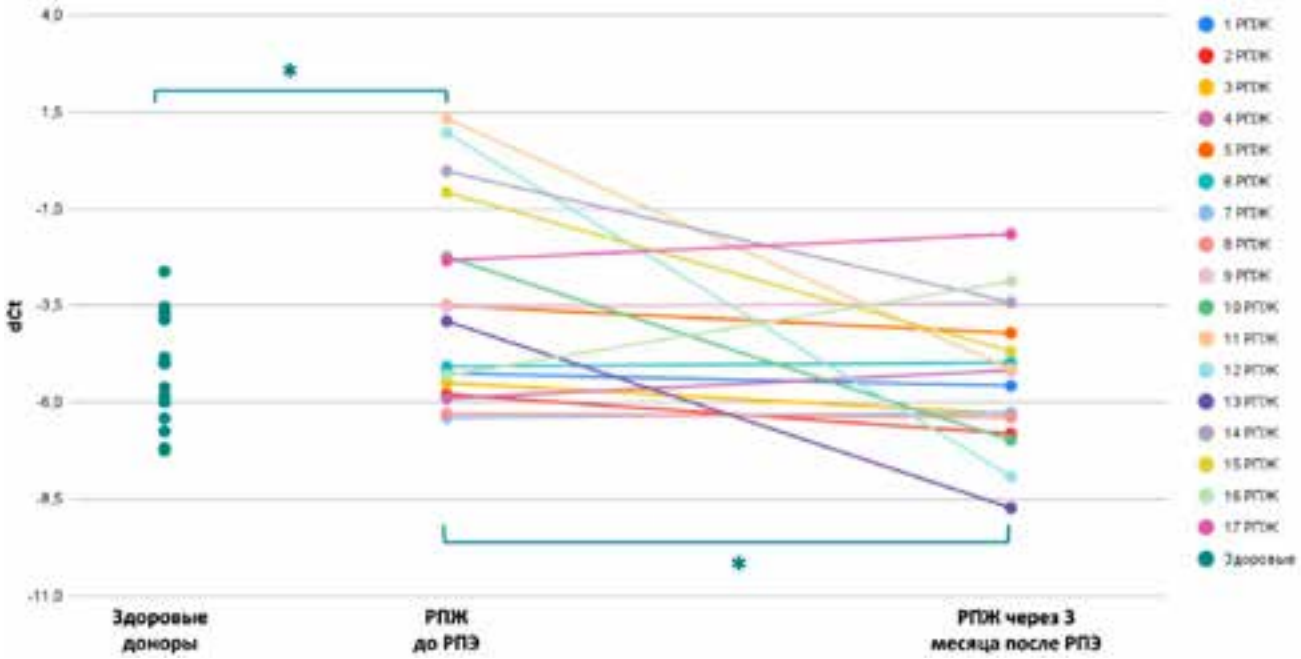


Рисунок 1. Динамика относительной экспрессии miRNA-30e/205 – пример пары микроРНК, изменяющей свою экспрессию после РПЭ согласно первому выделенному паттерну

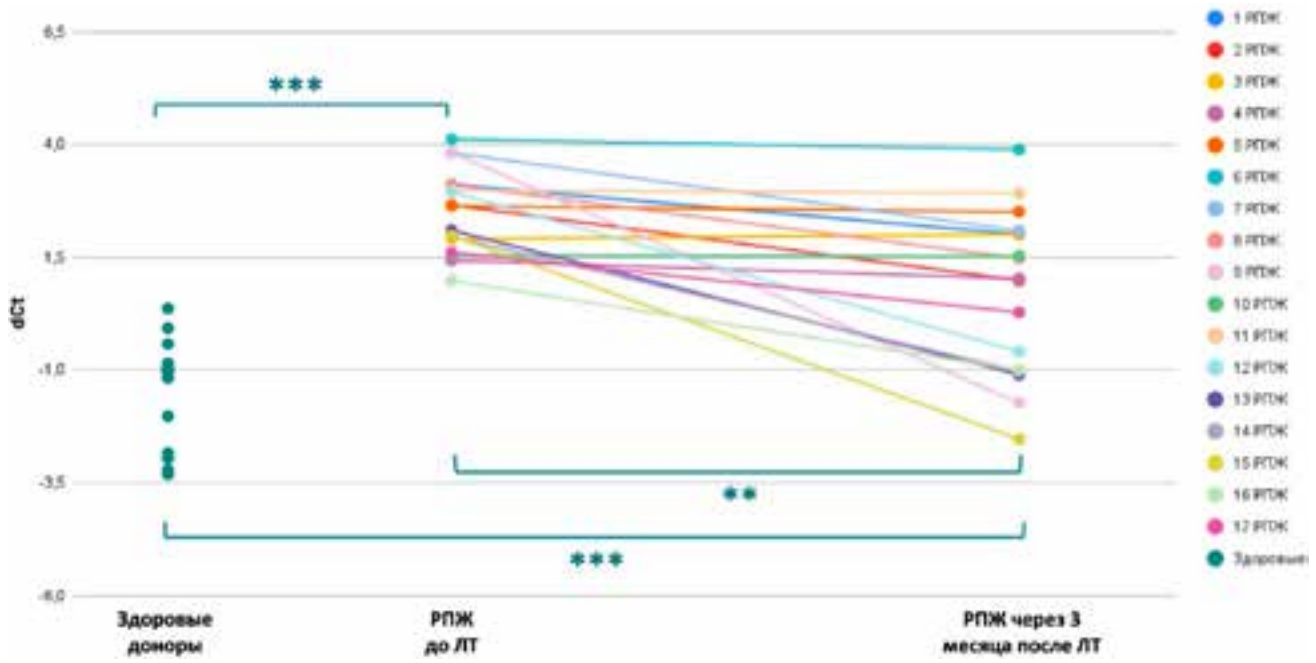


Рисунок 2. Динамика относительной экспрессии miRNA-30e/31 – пример пары микроРНК, изменяющей свою экспрессию после ЛТ согласно первому выделенному паттерну

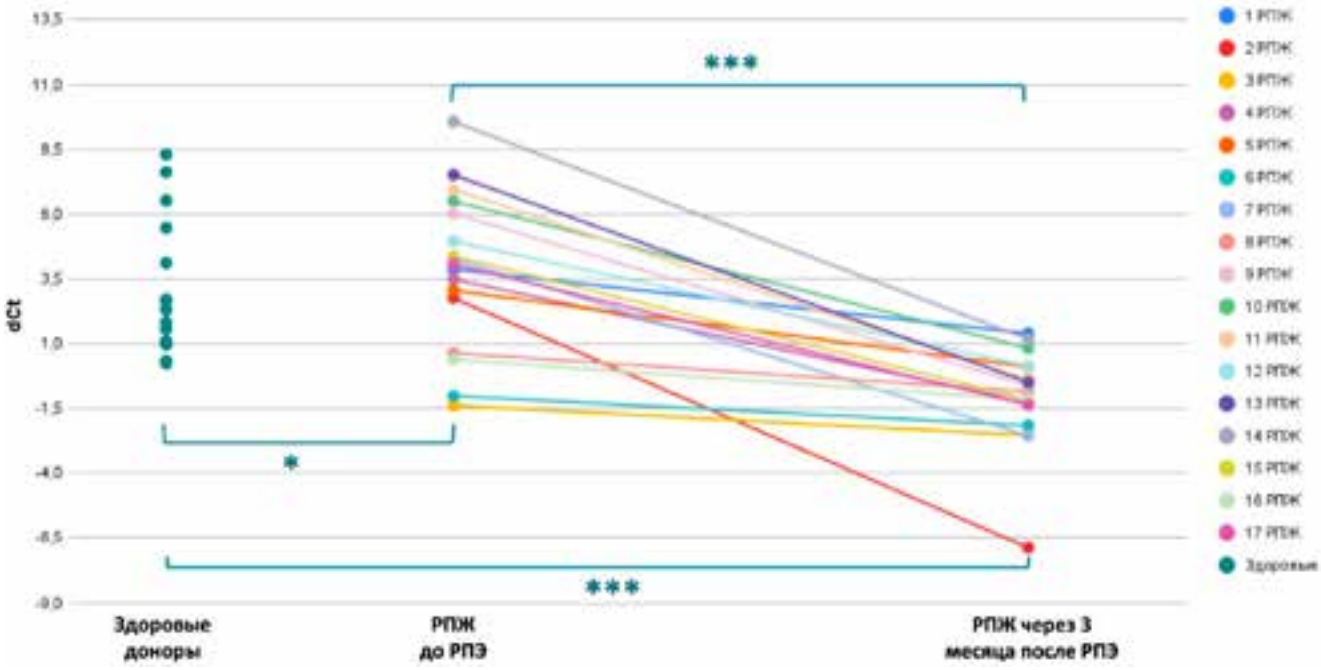


Рисунок 3. Динамика относительной экспрессии miRNA-19b/375 – пример пары микроРНК, изменяющей свою экспрессию после РПЭ согласно второму выделенному паттерну

Относительная экспрессия пар микроРНК, принадлежащих к третьей группе (то есть без достоверных изменений), предположительно, зависит от многих индивидуальных для каждого пациента факторов и поэтому не позволяет выявить четкий паттерн динамики.

Таким образом, основной интерес с точки зрения оценки эффективности терапии представляют собой 10 и 23 пары микроРНК, относительная экспрессия которых после РПЭ и ЛТ соответственно приблизились к таковой у доноров. Проанализировав полученные данные, были выявлены 5 пар микроРНК, обладающих потенциально универсальной маркерной функцией, то есть пары, в перспективе подходящие для оценки эффективности и РПЭ, и ЛТ: miRNA-31/375, miRNA-30e/92a, miRNA-30e/205, miRNA-125b/660, miRNA-200b/375.

Выявленные различные паттерны динамики уровней относительной экспрессии микроРНК, опираясь на биологические функции микроРНК в организме, потенциально отображают изменения состояния здоровья пациента, а также соответствуют процессам, сопряженным с канцерогенезом. Как известно, микроРНК выполняют регуляторные функции в организме, оказывая онкогенный или онкосупрессорный эффекты. 14 исследованных микроРНК можно разделить на две группы с точки зрения онкогенного или онкосупрессорного влияния на развитие РПЖ на основе литературных данных:

- Исследуемые микроРНК, оказывающие преимущественно онкогенное действие: miRNA-125b, -222, -375, -378a, -425, -660;
- Исследуемые микроРНК, оказывающие преимущественно онкосупрессорное действие: miRNA-19b, -22-3p, -30e, -31, -92a, -144, -200b, -205.

  Следует отметить, что полученные в настоящем исследовании сведения о направленности изменений уровней экспрессии 14-ти микроРНК у больных РПЖ после терапии преимущественно согласуются с таковым разделением на онкогенную и онкосупрессорную группы.

По соотношению уровней онкогенных/онкосупрессорных микроРНК у пациентов можно сделать выводы об их состоянии после терапии и потенциально использовать эту информацию для прогнозирования дальнейшего течения заболевания и вероятности развития рецидива.

Так, анализируя пару miRNA-19b/125b после РПЭ, было обнаружено, что у пациентов с неблагоприятным прогнозом и признаками рецидива (обнаруженными позднее высоким уровнем ПСА после операции и/или вторичными изменениями в тазовых лимфоузлах) уже через 3 месяца после операции наблюдается повышенный относительно группы пациентов с благоприятным прогнозом уровень экспрессии онкогенной miRNA-125b и пониженный – онкосупрессорной miRNA-19b. Такие пациенты на Рисунке 4 выделены красным цветом. Следует отметить, что пяти серым пациентам из подгруппы “А” (верхней подгруппы) к сегодняшнему дню еще не сделали МРТ, поэтому невозможно однозначно сказать об отсутствии или о наличии у них признаков рецидива. Синим цветом выделен пациент, у которого был выявлен положительный хирургический край, но при этом спустя год после операции не было обнаружено признаков рецидива, что согласуется с результатами анализа экспрессии микроРНК.

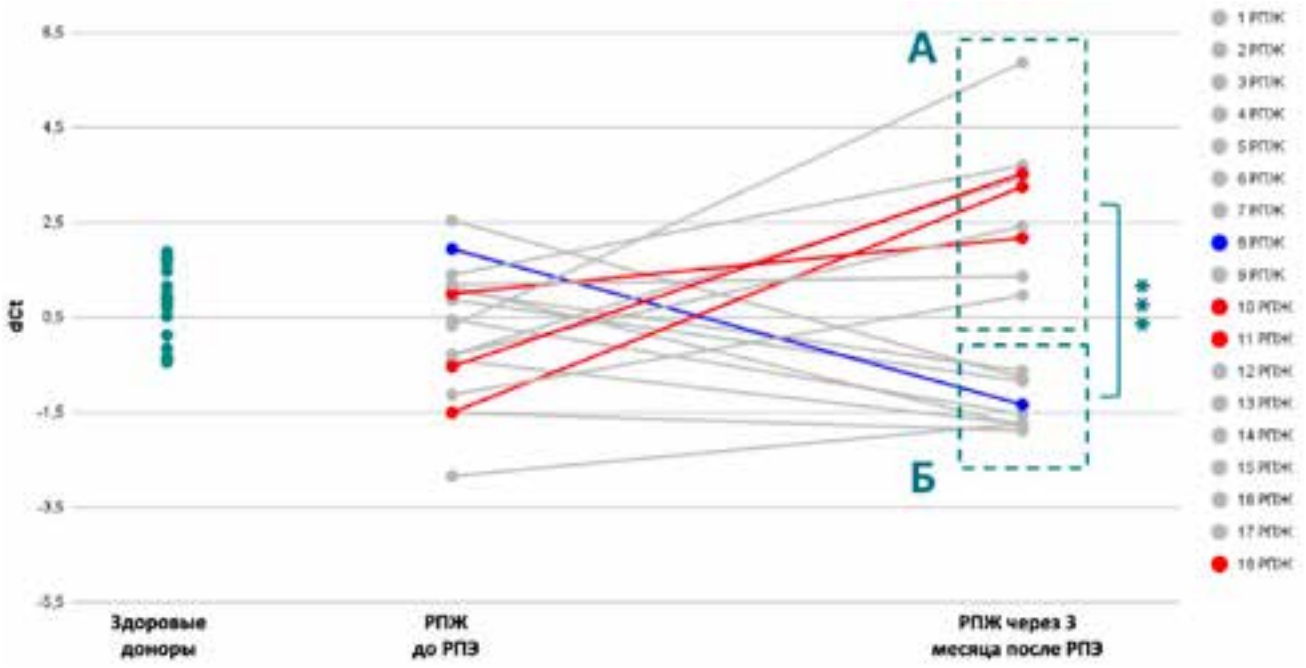


Рисунок 4. Динамика относительной экспрессии miRNA-19b/125b после РПЭ

Таким образом, для пары miRNA-19b/125b и ряда других (5 пар) спустя 3 месяца после РПЭ потенциально можно выделить две подгруппы пациентов: подгруппу “А” с условно более худшим прогнозом дальнейшего течения заболевания и подгруппу “Б” с условно более благоприятным прогнозом. Тем не менее, эти изменения могут быть временными и обусловлены постоперационными процессами; именно поэтому трехмесячный срок наблюдения за пациентами не является окончательным. Аналогичная картина наблюдается для ряда пар (21 пара) микроРНК после ЛТ, например, miRNA-30e/375. У трех исследуемых пациентов с неблагоприятным ходом течения заболевания в течение трех месяцев после ЛТ профиль относительной экспрессии отличается не только от доноров, но и от остальных пациентов в этой группе. Необходимо отметить, что уровень ПСА у этих троих пациентов после лечения не превышал референсное значение. Эти примеры дополнительно указывают на перспективность использования микроРНК в составе ВВ мочи в качестве маркеров эффективности терапии при РПЖ.

Изменение уровня экспрессии каждой микроРНК в процессе лечения онкологических заболеваний и после хирургического вмешательства или курса терапии зависит от того, как микроРНК вовлечена в канцерогенез и иные физиологические процессы. микроРНК, формирующие 5 выявленных потенциально универсальных прогностических пар (miRNA-31/375, miRNA-30e/92a, miRNA-30e/205, miRNA-125b/660, miRNA-200b/375), широко исследуются, и данные, полученные в настоящей работе, преимущественно согласуются с литературными. Например, известно, что экспрессия miRNA-205 в клетках опухоли ПЖ снижена по сравнению с клетками здоровых тканей, что ассоциировано с активным ростом и делением

клеток, а также метастазированием опухоли [10]. Для miRNA-92a [11], miRNA-30e [12], miRNA-31 [13], miRNA-200b [14] также показана онкосупрессорная роль в различных исследованиях. Так, известно, что miRNA-200b является ингибитором процессов клеточного роста, метастазирования и эпителиально-мезенхимального перехода. Более того, низкая экспрессия miRNA-200b ассоциирована с возникновением биохимического рецидива (БХР) рака [14].

Напротив, miRNA-375, по-видимому, является онкогенной микроРНК, поскольку ее повышенная экспрессия положительно коррелирует с высоким риском развития БХР. Действительно, было установлено, что повышенная экспрессия miRNA-375 ассоциирована с метастатическим РПЖ и более агрессивной формой заболевания [15]. Аналогично, онкогенные функции показаны для miRNA-125b [16] и miRNA-660 [17].

Заключение. В настоящем исследовании описана динамика экспрессии микроРНК ВВ мочи после РПЭ и ЛТ. Выявлены пары микроРНК – потенциальные маркеры эффективности РПЭ и ЛТ, в том числе и 5 пар (miRNA-31/375, miRNA-30e/92a, miRNA-30e/205, miRNA-125b/660, miRNA-200b/375) универсальные для РПЭ и ЛТ. Анализ уровня относительной экспрессии микроРНК является перспективным методом оценки эффективности терапии онкозаболеваний, и выявленные закономерности могут служить основой для дальнейших исследований способности микроРНК предсказывать развитие рецидива, для чего необходимо значительное расширение исследуемой выборки и более длительное наблюдение за пациентами.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ №23-25-10026 в рамках поддержанного Правительством Новосибирской области проекта 00000054069959982351205 82/ № р-45.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2020.

2. Spratt DE, McHugh DJ, Morris MJ, et al. Management of Biochemically Recurrent Prostate Cancer: Ensuring the Right Treatment of the Right Patient at the Right Time. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2018;38:355-362.

3. Teo MY, Rathkopf DE, Kantoff P. Treatment of Advanced Prostate Cancer. Annu Rev Med. 2019;70:479-499.

4. Porcaro AB, Corsi P, Inverardi D, et al. Prostate-specific antigen associates with extensive lymph node invasion in high-risk prostate cancer. Tumori. 2018;104(4):307-311.

5. Konoshenko MY, Bryzgunova OE, Lekchnov EA, et al. The Influence of Radical Prostatectomy on the Expression of Cell-Free MiRNA. Diagnostics (Basel). 2020;10(8):600.

6. Konoshenko MY, Lekchnov EA, Bryzgunova OE, et al. Isolation of Extracellular Vesicles from Biological Fluids via the Aggregation-Precipitation Approach for Downstream miRNAs Detection. Diagnostics (Basel). 2021;11(3):384.
7. Lekchnov EA, Zaporozhchenko IA, Morozkin ES, et al. Protocol for miRNA isolation from biofluids. Anal Biochem. 2016;499:78-84.
8. Boeri M, Verri C, Conte D, et al. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(9):3713-3718.
9. Landoni E, Miceli R, Callari M, et al. Proposal of supervised data analysis strategy of plasma miRNAs from hybridisation array data with an application to assess hemolysis-related deregulation. BMC Bioinformatics. 2015;16:388.
10. Chauhan N, Manojkumar A, Jaggi M, et al. microRNA-205 in prostate cancer: Overview to clinical translation. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2022;1877(6):188809.
11. Ottman R, Levy J, Grizzle WE, et al. The other face of miR-17-92a cluster, exhibiting tumor suppressor effects in prostate cancer. Oncotarget. 2016;7(45):73739-73753.
12. Zheng XM, Zhang P, Liu MH, et al. MicroRNA-30e inhibits adhesion, migration, invasion and cell cycle progression of prostate cancer cells via inhibition of the activation of the MAPK signaling pathway by downregulating CHRM3. Int J Oncol. 2019;54(2):443-454.
13. Choi S, Lee S, Han YH, et al. miR-31-3p functions as a tumor suppressor by directly targeting GABBR2 in prostate cancer. Front Oncol. 2022;12:945057.
14. Katz B, Reis ST, Viana NI, et al. Comprehensive study of gene and microRNA expression related to epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer. PLoS One. 2014;9(11):e113700.
15. Nitusca D, Marcu A, Seclaman E, et al. Diagnostic Value of microRNA-375 as Future Biomarker for Prostate Cancer Detection: A Meta-Analysis. Medicina (Kaunas). 2022;58(4):529.
16. Shi X.B, Xue L, Ma A.H. et al. miR-125b promotes growth of prostate cancer xenograft tumor through targeting pro-apoptotic genes. Prostate 2011;71(5):538-549.
17. Ai C, Ma G, Deng Y. et al. Nm23-H1 inhibits lung cancer bone-specific metastasis by upregulating miR-660-5p targeted SMARCA5. Thorac Cancer 2020;11(3):640-650.

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНДЕРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Я.А. Эрперт, врач-ординатор 1-го года, **Р.М. Динов,** ***врач-ординатор 1-го года***

Научный руководитель: д.м.н., профессор И.Г. Гатауллин

Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань, Россия

Введение. По данным GlobalCancerStatistics2020 в мире зафиксирован 1148515 новых случаев рака толстой кишки и 576858 смертей от него и 732210 новых случаев рака прямой кишки и 339022 смерти от этой патологии. Среди мужчин колоректальный рак (КРР) составил 1065960 случаев (11,4%) заболеваемости и 515637 (9,4%) смертности [1]. У женщин эти показатели составили 865630 (9,9%) для заболеваемости и 419536 (9,5%) для смертности Колоректальный рак (КРР) является важной проблемой современной онкологии характеризующейся высокой заболеваемостью и смертностью. В России колоректальный рак занимает второе место по заболеваемости и третье по смертности среди женщин и третье место по обоим показателям среди мужчин [2]. Однако данные выживаемости различаются между полами – у женщин они выше, чем у мужчин. **Цель исследования** заключается в анализе показателей выживаемости и сравнении полученных данных у пациентов разного пола и в разных возрастных группах. **Методы.** Были проанализированы отдаленные результаты лечения 1593 больных КРР, из них 720 мужчин (45,2%) и 873 женщин (54,8%). Все пациенты были разделены на три возрастные группы: до 50 лет, 50-70 лет и старше 70. Во всех группах изучалась одно- и пятилетняя выживаемость пациентов с учетом пола и стадии заболевания. Статистический анализ проводился с помощью программы MedCalcV.22.0.14 **Результаты**. В группе пациентов до 50 лет было 119 человек - 56 мужчин (47,1%) и 63 женщины (52, 9%). Общая пятилетняя выживаемость у мужчин составила 53,6%, у женщин 60,3% (Рис. 1). Изучение пятилетней выживаемости в зависимости от стадии заболевания показало, что при 1 стадии заболевания достоверных различий в выживаемости между мужчинами и женщинами нет (около 100%) (Рис. 2). Выраженные различия заметны уже со 2 стадии, при которой пятилетняя выживаемость у мужчин составила 63,6%, у женщин – 90% (Рис. 3). При 3 стадии пятилетняя выживаемость составила у мужчин 50% и у женщин 66,7% (Рис. 4); при 4 стадии пятилетняя

выживаемость составила 11,1% у мужчин и 21,4% у женщин (Рис. 5). Различия статистически достоверны (p <0.05). У пациентов старших возрастных групп (50-70 и старше 70 лет) различия в общей пятилетней выживаемости были незначимыми (p>0.05).

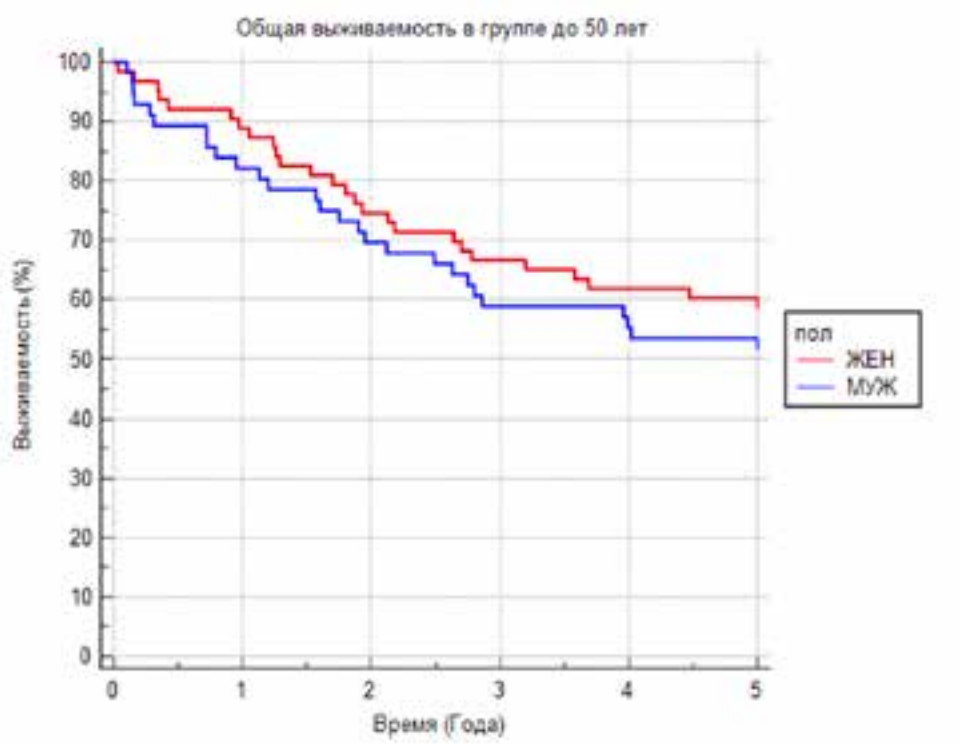


Рисунок 1. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет

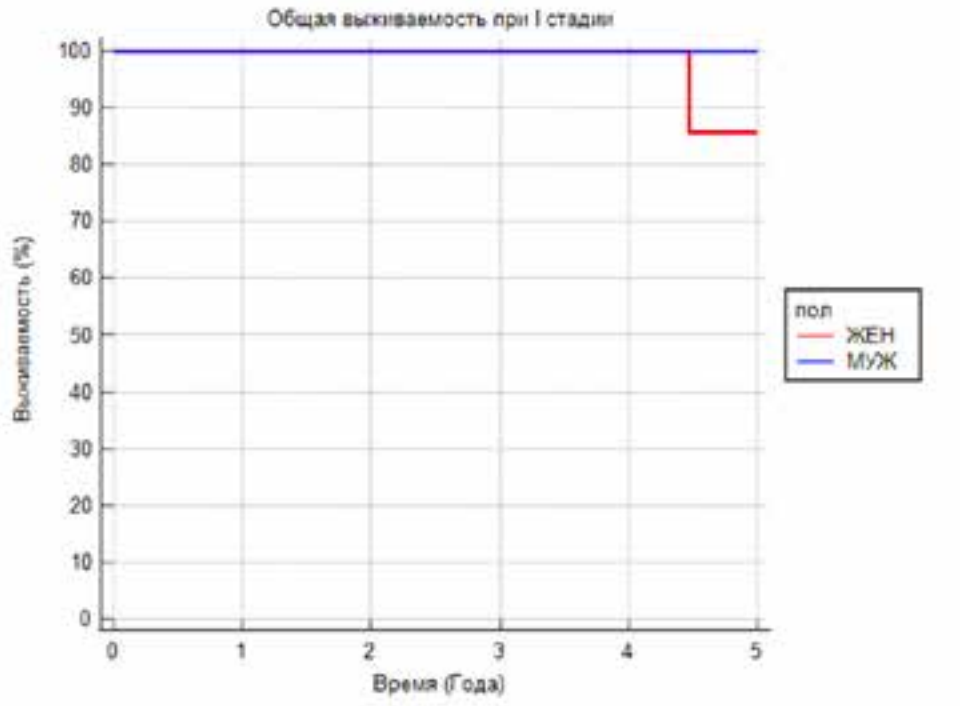


Рисунок 2. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 1-ой стадии КРР

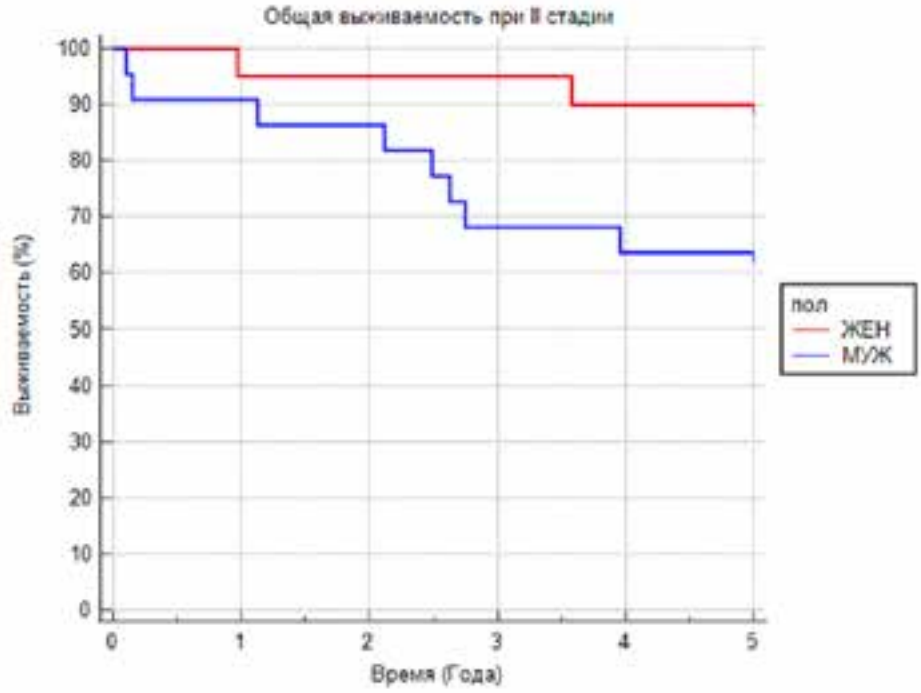


Рисунок 3. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 2-ой стадии КРР

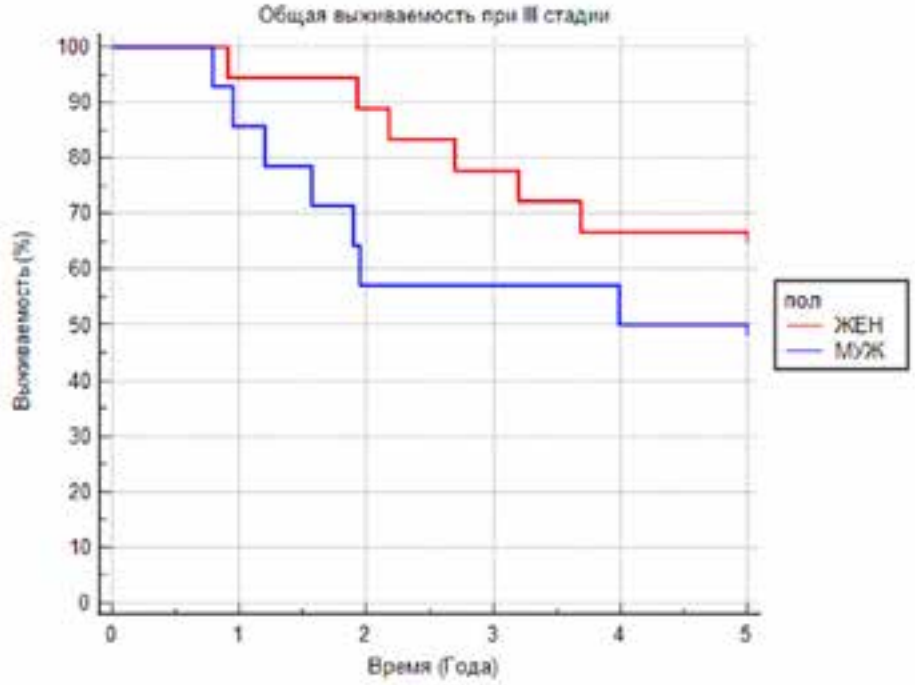


Рисунок 4. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 3-ой стадии КРР

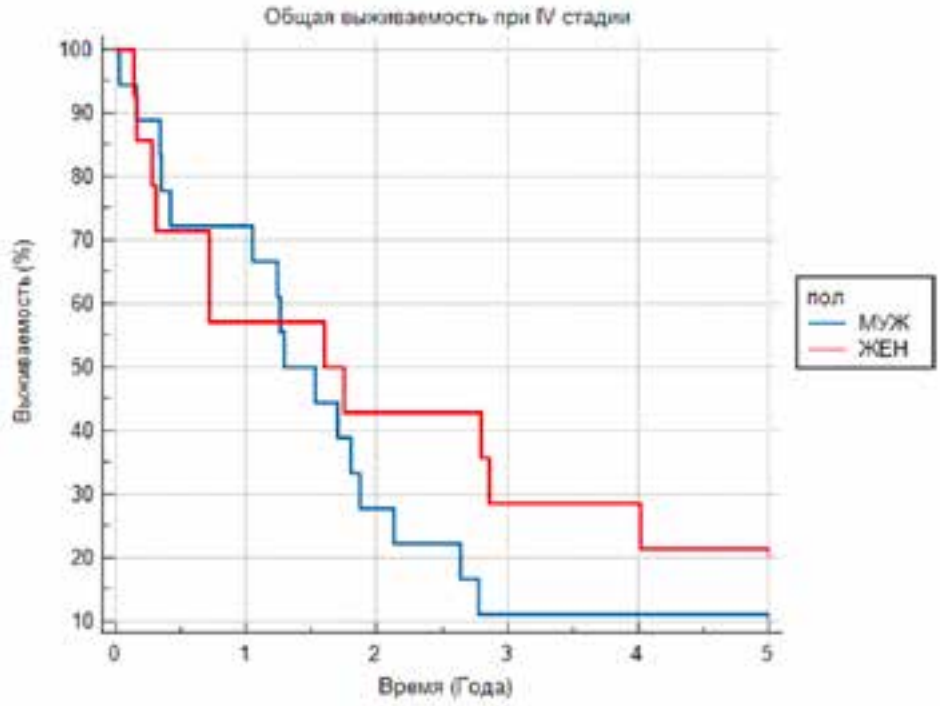


Рисунок 5. Показатели общей выживаемости у лиц до 50 лет при 4-ой стадии КРР

Обсуждение. Как показали наши исследования, имеется половое различие в общей 5-ти летней выживаемости пациентов. У женщин она выше, чем у мужчин во всех

возрастных группах и также существенно варьирует в зависимости от стадии заболевания. При I стадии выживаемость у пациентов одинаково высокая как у мужчин, так и женщин. В возрасте до 50 лет 5-ти летняя общая выживаемость у женщин при II, III и IV стадиях значимо выше, чем у мужчин. В возрасте 50-69 лет она одинакова для обоих полов, старше 70 лет у женщин она выше чем у мужчин только при II стадии заболевания.

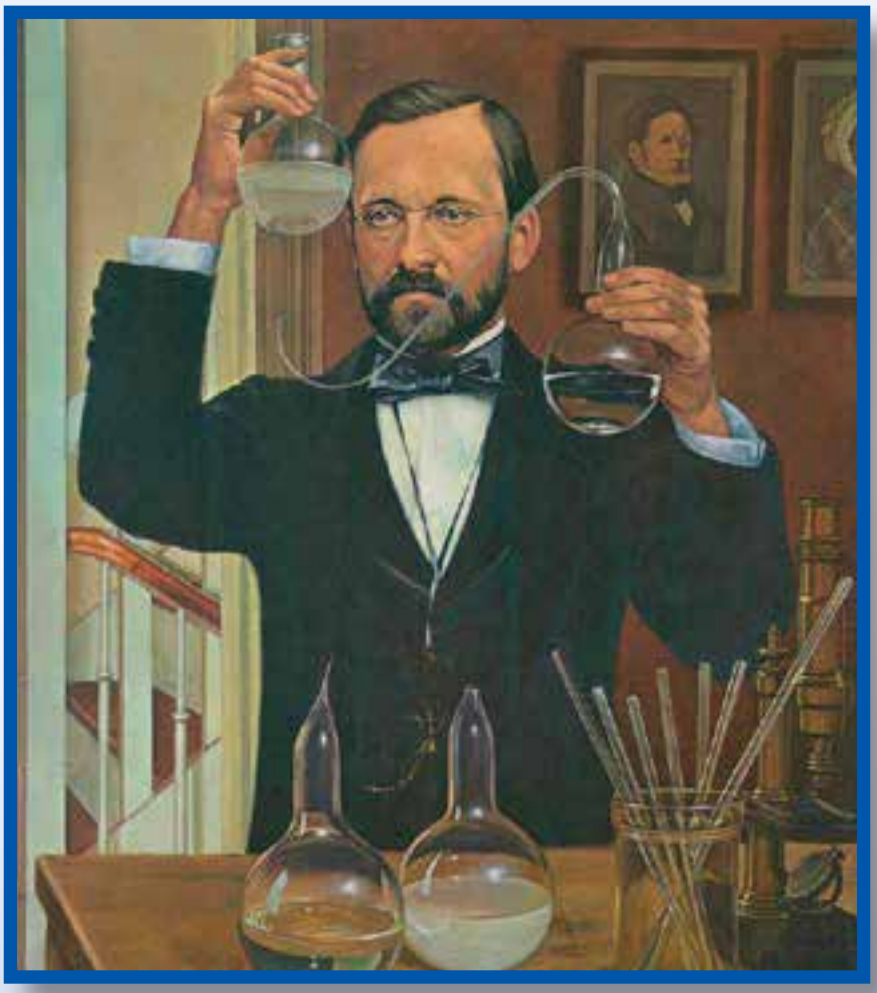
По данным литературы половые различия в результатах лечения КРР в значительной степени связаны с «защитным действием» эстрогенов, однако молекулярные механизмы этого не установлены, а клинические исследования противоречивы. В исследовании Schmuck R. et al (2020) авторы наблюдали более высокую выживаемость у женщин больных КРР старше 50 лет, получавших заместительную гормональную терапию [3]. Данные по гормонозаместительной терапии, являются, в некоторой степени спорными из-за риска развития рака молочной железы, венозного тромбоза и сердечно-сосудистых осложнений.

Выводы. Результаты наших исследований позволяют предположить, что женский пол, по-видимому, является существенным фактором, влияющим на общую выживаемость больных КРР в возрасте до 50 лет. Учитывая более лучшие отдаленные результаты лечения у женщин в предменопаузе, можно предположить о возможности применения заместительной гормонотерапии у женщин, получивших радикальное лечение по поводу КРР в постменопаузе, при тщательном динамическом наблюдении. Однако необходимы дальнейшие исследования по этому вопросу.

ЛИТЕРАТУРА

1. 1. Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram et al. // CA Cancer. J. Clin. — 2020. — Vol. 68. — P. 394-424.
2. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. − М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. − илл. – 239 с.
3. Schmuck R, Gerken M, Teegen EM, Krebs I, Klinkhammer-Schalke M, Aigner F, Pratschke J, Rau B, Benz S. Gender comparison of clinical, histopathological, therapeutic and outcome factors in 185,967 colon cancer patients. Langenbecks Arch Surg. 2020 Feb;405(1):71-80. doi: 10.1007/s00423-019-01850-6. Epub 2020 Jan 31. PMID: 32002628; PMCID: PMC7036075.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ



Луи Пастер (1822–1895)

«Мне казалось бы, что я совершаю кражу, если бы пропустил один день, не сделав какой-нибудь работы»

ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИОННОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА

Г.Г. Бадамшина*, доктор медицинских наук, доцент кафедры гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, заведующий отделом микробиологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)»,

* *e-mail:* ggbadamshina@yandex.ru

Л.М. Фатхутдинова, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

FEATURES OF THE INFECTIOUS MORBIDITY OF MEDICAL WORKERS

Badamshina Gulnara Galimyanovna*, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Hygiene, Occupational Medicine, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Head of the Microbiological Research Department of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan),

*ggbadamshina@yandex.ru

Fatkhutdinova Lilia Minvagizovna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hygiene, Occupational Medicine, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia

Актуальность. Численность медицинского персонала (МП) по данным Федеральной службы государственной статистики составляет около 3 миллионов человек и имеет тенденцию к дальнейшему росту.

В настоящее время недостаточно изученной остается инфекционная заболеваемость МП, в работах ряда исследователей описаны отдельные формы инфекционных заболеваний у медицинских работников (в основном туберкулез, гепатит В, COVID-19) [1-5]. На современном этапе развития медицинской науки, благодаря внедрению цифровизации процессов сбора медицинской информации, в том числе по инфекционной заболеваемости, имеются более широкие возможности для комплексного изучения инфекционной заболеваемости медицинского персонала.

Цель: изучить особенности инфекционной заболеваемости медицинского персонала.

Материалы и методы. Изучение инфекционной заболеваемости МП проведено на основе анализа базы данных об инфекционной заболеваемости населения Республики Татарстан (195Мб), сформированной по результатам обработки экстренных извещений о зарегистрированных на территории Республики Татарстан (РТ) случаев инфекционных заболевании МП (n=3749). Экстренные извещения о случаях инфекционных заболевании поступили в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» за

период с 2014 по 2021 гг. Показатели заболеваемости МП сравнены с показателями заболеваемости населения трудоспособного возраста, не относящегося к медицинскому персоналу.

Результаты. На протяжении изученного периода среди медицинского персонала Республики Татарстан было зарегистрировано 3749 случаев инфекционных заболеваний. Структура выявленных заболеваний представлена на рисунке 1.

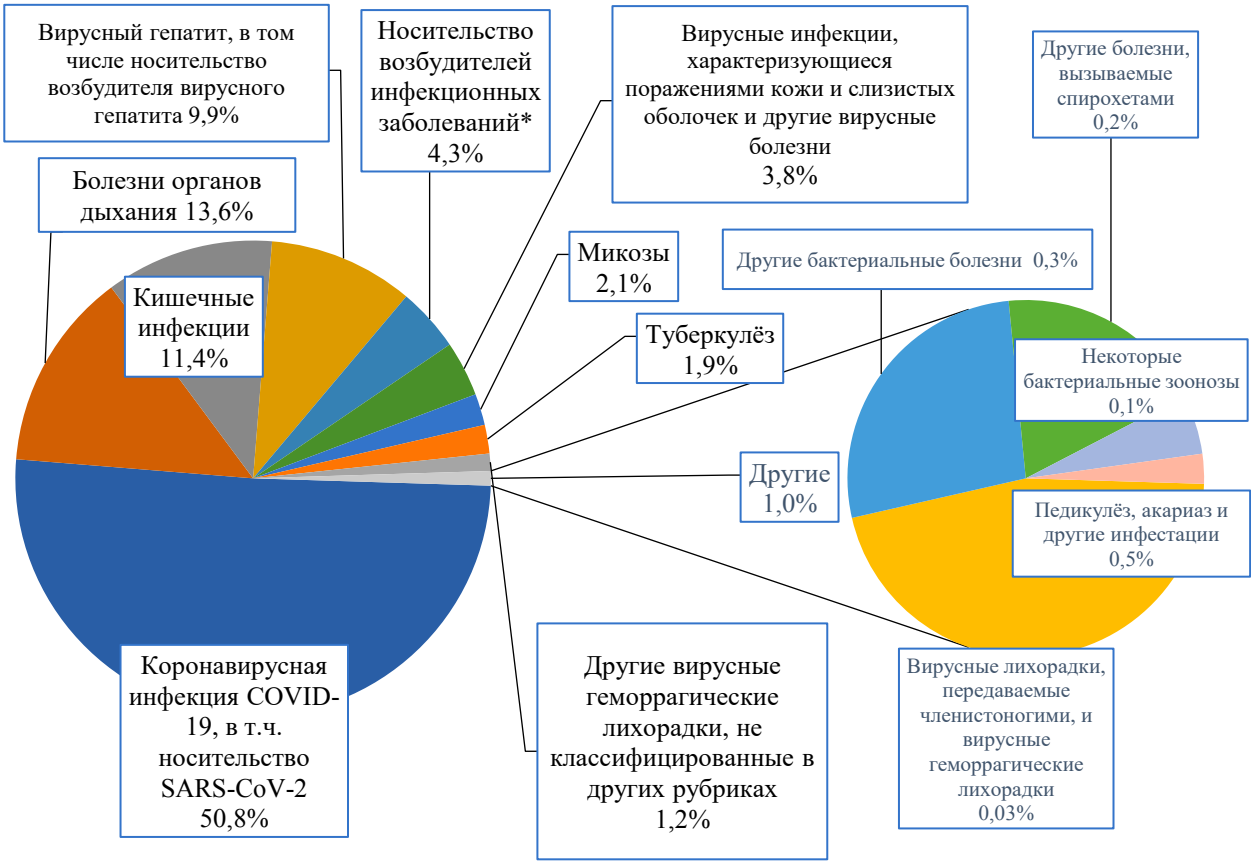


Рис. 1. Структура инфекционной заболеваемости медицинского персонала Республики Татарстан за 2014-2021гг.

Наибольший удельный вес в структуре занимали случаи заболеваний коронавирусной инфекцией COVID-19 (50,8% случаев), болезни органов дыхания, среди которых ОРВИ и другие инфекционные заболевания (13,6% случаев), кишечные инфекции (11,4% и вирусные гепатиты (9,9% случаев); несколько реже среди МП встречались вирусные инфекции, характеризующиеся поражениями кожи и слизистых оболочек и другие вирусные болезни (3,8%), микозы (2,1%), туберкулез (1,9%), вирусные геморрагические лихорадки (1,2%) и другие формы инфекционных заболеваний (5,3%) (рис. 1).

Показатель заболеваемости *коронавирусной инфекцией COVID-19* в Республике Татарстан составил 1395 на 100 тысяч работающих медицинских работников в РТ, что в 4 раза выше

показателя среди населения трудоспособного возраста, не относящегося к медицинскому персоналу (335,2 на 100 тысяч населения); ОР = 4,1 (95% ДИ 3,7-4,6).

Анализ заболеваемости МР болезнями органов дыхания показал, что у МП за изучаемый период было зарегистрировано всего 508 случаев, из которых 79,9 ± 1,8% случаев приходилось на пневмонии (внебольничные) (пневмонии, вызванные *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* и пневмонии, не классифицированные в других рубриках); 9,8 ± 2,2% случаев – на острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточнённой локализации; 9,6 ± 1,1% случаев – на грипп, вызванный идентифицированным вирусом сезонного гриппа, и грипп, вирус не идентифицирован, и 0,6 ± 0,3% случаев – на вирусные пневмонии, не классифицированные в других рубриках (J12).

Показатели заболеваемости МР *острыми респираторными инфекциями верхних дыхательных путей (без учёта гриппа)* были статистически значимо ниже по сравнению с показателями заболеваемости среди населения трудоспособного возраста, не относящегося к медицинскому персоналу ($p<0,05$), что может быть связано с отсутствием регистрации данных нозологических форм заболеваний среди МР вследствие самолечения. Установлены статистически значимые относительные риски развития гриппа и бактериальных пневмоний для МП по сравнению с населением трудоспособного возраста, не относящимся к медицинскому персоналу (ОР = 1,4, 95% ДИ 1,1 – 1,8, ОР = 1,5, 95% ДИ 1,4 – 1,7, соотвественно).

Анализ заболеваемости кишечными инфекциями показал, у МП на протяжении исследуемого периода в 429 случаях регистрировались различные нозологические формы инфекций: сальмонеллез (38 случаев; 1,0% общей структуры инфекционной заболеваемости), шигеллез (3 случая; 0,08% общей структуры инфекционной заболеваемости), энтеротоксигенная инфекция, вызванная Escherichia coli (2 случая; 0,05% общей структуры инфекционной заболеваемости), бактериальная кишечная инфекция (171 случай; 4,6% общей структуры инфекционной заболеваемости), бактериальное пищевое отравление (150 случаев; 4,0% общей структуры инфекционной заболеваемости), лямблиоз (9 случаев; 0,2% общей структуры инфекционной заболеваемости), ротавирусный энтерит (40 случая; 1,1% общей структуры инфекционной заболеваемости), острая гастроэнтеропатия, вызванная норовирусом (4 случая; 0,1% общей структуры инфекционной заболеваемости общей структуры инфекционной заболеваемости), другие вирусные кишечные инфекции неуточнённой этиологии (12 случаев; 0,3% общей структуры инфекционной заболеваемости).

Установлены высокие относительные риски бактериальной кишечной инфекции ОР = 3,8 (95% ДИ 3,3-4,5), острой гастроэнтеропатии, вызванной норовирусом (2016 г.) = 8,8 (95% ДИ 2,6-29,5), ротавирусного энтерита =1,4 (95% ДИ 1,1-1,9), для медицинского персонала по сравнению с населением трудоспособного возраста.

Высокие риски заражения возбудителями *бактериальных кишечных инфекций и бактериальных пневмоний* могут указывать на необходимость изучения роли в возникновении данных заболеваний условно-патогенных микроорганизмов IV группы патогенности, циркулирующих в МО, или активации патогенных свойств микроорганизмов – представителей микрофлоры биотопов у МП. Высокие риски ротавирусного энтерита у МП диктуют необходимость рассмотрения возможности искусственной иммунизации медицинского персонала против ротавирусной инфекции и предварительного исследования пациентов на носительство возбудителя данной инфекцией перед поступлением пациентов на плановую госпитализацию.

Анализ заболеваемости вирусными гепатитами показал, что у МР на протяжении исследуемого периода регистрировалось 370 случаев острых (9,7 ± 1,5% случаев) и хронических форм (18,1 ± 2,0% случаев), а также выявлялось носительство антигена вируса гепатита В (72,2 ± 2,3% случаев). Наиболее распространёнными острыми формами являлись вирусный гепатит А (58,3 ± 8,2% случаев) и вирусный гепатит С (38,9 ± 8,1% случаев). Установлены статистически значимые относительные риски развития гепатита С и гепатита А у медицинских работников по сравнению с населением трудоспособного возраста, не относящимся к медицинскому персоналу (ОР = 3,3 (95% ДИ 1,9-5,7) и ОР = 1,9 (95% ДИ 1,2-2,8), соответственно). Относительный риск заболеваемости вирусным гепатитом В у МР, равный 7,4 (95% ДИ 0,92-58,9, уровень статистической значимости $p<0,1$), диктует необходимость изучения восприимчивости к данному инфекционному заболеванию среди МР.

Анализ заболеваемости МР вирусными инфекциями, характеризующимися поражениями кожи и слизистых оболочек и другими вирусными болезнями показал, что на протяжении исследуемого периода у МП регистрировались ветряная оспа – 122 случая (3,3%), опоясывающий лишай – 5 случаев (0,13%), корь – 2 случая (0,05%), эпидемический паротит– 2 случая (0,05%) и инфекционный мононуклеоз – 6 случаев (0,16%), энтеровирусная инфекция – 3 случая (0,08%). Установлены высокие риски развития отдельных форм инфекционных заболеваний у медицинских работников по сравнению с населением трудоспособного возраста, не относящимся к медицинскому персоналу: для кори (ОР=11,8 (95% ДИ 2,6-53,9), эпидемического паротита (ОР = 9,0 (95%ДИ 2,1-40,2), энтеровирусной инфекции (ОР = 8,4 (95% ДИ 4,2-16,9).

На протяжении исследуемого периода у МП было выявлено 73 случая различных форм туберкулёза. В структуре выявленных случаев наибольший удельный вес составили случаи туберкулёза лёгких 90,4 ± 0,5%. Показатели заболеваемости МР туберкулёзом были достоверно ниже по сравнению с показателями заболеваемости среди населения трудоспособного возраста, не относящегося к медицинскому персоналу: относительный риск 0,50 (95% ДИ 0,40-0,63), уровень статистической значимости $p<0,05$, что, вероятно, обусловлено наличием гигиенических

навыков и высокой эпидемиологической настороженностью медицинского персонала исследованных МО. Обращает на себя внимание тот факт, что случаи профессионального туберкулёза (8 случаев) диагностированы лишь для сотрудников противотуберкулёзного диспансера. Для МП, занятого в МО, где медицинский персонал первым встречается с возбудителями инфекционных заболеваний, случаи профессионального туберкулеза (Т75.8) установлены не были. Вместе с тем, среди сотрудников поликлиник и поликлинических подразделений многопрофильных организаций за изученный период в РТ было зарегистрировано 57 случаев туберкулеза.

Анализ заболеваемости МР столбняком показал, что в 2014 году данное заболевание было диагностировано у вакцинированного против данной инфекции медицинского работника врача-терапевта участкового, других случаев заболеваний данной инфекцией в Республике Татарстан выявлено не было (ОР = 60,16, 95% ДИ 3,76 – 961,82, ($p < 0,05$).

Изучение заболеваемости МР коклюшем показало, что данное заболевание на протяжении исследуемого периода было выявлено в 4 случаях (0,1%) (ОР =13,1 (95% ДИ 4,4-38,8).

За исследуемый период у МР регистрировались микозы 80 случаев (2,1%), представленные дерматофитией; бруцеллёз – 2 случая (0,05%), болезнь Лайма (клещевой боррелиоз) – 7 случаев (0,19%); лихорадка Денге – 1 случай (0,03%); геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – 44 случая (1,2%); педикулёз – 5 случаев (0,13%); чесотка – 12 случаев (0,32%). Показатели заболеваемости данными формами инфекционных заболеваний статистически значимо не отличались от показателей заболеваемости трудоспособного населения.

Относительный риск заражения болезнью, вызванной вирусом ВИЧ, среди МР, по сравнению с населением трудоспособного возраста, не относящимся к медицинскому персоналу, равный 0,09 (95% ДИ 0,05-0,15) (зарегистрирован 1 случай инфицирования), может свидетельствовать об эффективности существующей системы санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на снижение заболеваемости ВИЧ-инфекцией среди МР.

Заключение. Таким образом, у медицинского персонала установлены повышенные показатели ОР для отдельных форм инфекционных заболеваний, в т.ч. вакциноуправляемых, а также вызванных условно-патогенными микроорганизмами, что свидетельствует о необходимости мониторинга состояния специфического иммунитета к кори, коклюшу, эпидемическому паротиту, гепатиту В, гриппу; пересмотре подходов к вакцинации медицинского персонала, предусмотренных национальным календарем профилактических прививок; изучения роли условно-патогенных микроорганизмов в возникновении госпитальных инфекций у медицинских работников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические проявления туберкулеза у работников медицинских организаций / А. С. Кадыров, Г. М. Абдылаева, М. А. Кадыров, Т. Х. Кудайбердиев // Научные исследования в Кыргызской Республике. - 2020. - № 1. С. 14-21

2. Колпакова, Л.В. Туберкулез среди медицинских работников: проблема профессиональной безопасности / Л.В. Колпакова, Е.М. Белиловский // Московская медицина. 2019. - № 6 (34). - С. 54.

3. Петрухин Н. Н. Парентеральные вирусные гепатиты как профессиональное заболевание медицинских работников / Н. Н. Петрухин, И. В. Бойко, А. О. Шапарь [и др.] // Профилактическая медицина – 2019: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Санкт-Петербург, 2019. - С. 78-83.

4. Анализ заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами медицинских работников в Республике Беларусь / А. В. Зеленко, С. В. Федорович, Е. А. Семушина [и др.] // Здоровье и окружающая среда. - 2016. - № 26. - С. 173-175.

5. Бухтияров И. В. Эпидемиологические и клинико-экспертные проблемы профессиональной инфекционной заболеваемости работников при оказании медицинской помощи в условиях пандемии COVID-19 / И. В. Бухтияров // Медицина труда и промышленная экология. - 2021. - Т. 61, № 1. - С. 4-12.

ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ И ПАСПОРТИЗАЦИИ ОЧАГОВ ПРИКАСПИЙСКОГО РЕГИОНА И ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ

А.Н. Балыкова[1*], А.В. Коврижников[1], Д.Н. Конанов[2], Г.А. Ерошенко[1]

[1]ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Российская Федерация

[2]ФБУН НИИ СБМ Роспотребнадзора, г. Москва, Российская Федерация

*Балыкова Алина Николаевна, E-mail: alinabalnik@gmail.com

Аннотация

По результатам комплексного анализа 350 штаммов *Yersinia pestis,* выделенных в 1912–2015 гг. в 25 природных очагах чумы на территории четырех государств: России, Казахстана, Туркменистана и Узбекистана, получены новые данные по эволюции и генетической изменчивости популяций распространенного на территории России и стран СНГ высоковирулентного и эпидемически значимого средневекового биовара возбудителя чумы. Эти данные важны для реконструкции пространственно-временной циркуляции средневекового биовара в периоды эпидемической активности очагов чумы Прикаспия и установления причин дальнейшей экспансии возбудителя на территории Восточной Европы и Центральной Азии. С помощью авторских компьютерных программ проанализированы SNP-/VNTR-/CRISPR-локусы генома средневекового биовара. Выявлены 59 SNPs и разрабатываются SNP-панели для проведения молекулярно-генетической паспортизации очагов чумы. Установлен профиль CRISPR-элементов и спейсеров (*YPa* a1-a2-a3; *YPb* b1-b2-b3-b4`; *YPc* c1-c2-c3); определены вариабельные локусы VNTR обеспечивающие дифференциацию генетических популяций *Y. pestis* средневекового биовара различного происхождения. Для изучения механизмов регуляции генной активности возбудителя чумы использована технология ONT (Oxford Nanopore Technology), по данным которой проведен анализ модифицированных оснований классических для *Y. pestis* метилтрансфераз: *dam* (сайт метилирования G6mATC) и *dcm* (сайт метилирования C4mCWGG) у 10 штаммов *Y. pestis,* относящихся к филогенетическим ветвям 0.ANT5 античного биовара (ближайший предок штаммов Юстиниановой чумы) и 2.MED1 средневекового биовара. Оптимизирована методика анализа профиля метилирования ДНК *Y. pestis*, которая повысит эффективность дальнейших исследований

паттерна метилирования при различных температурных условиях существования в сложном жизненном цикле возбудителя и позволит оценить применимость использования этого метода в рамках паспортизации очагов чумы.

Полученные результаты важны для исследования изменчивости архитектуры генома возбудителя чумы и повышения эффективности эпидемиологического отслеживания происхождения патогенных штаммов при проведении молекулярно-эпидемиологического мониторинга очагов чумы.

ОЦЕНКА ФАКТОРОВ ВЕРОЯТНОГО РИСКА ЗАРАЖЕНИЯ COVID-19 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ

Е.В. Белова, А.И. Лезинова, Г.В. Нестеров

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 2

В исследовании по оценке факторов вероятного риска заражения новой короновирусной инфекцией у медицинских работников разных специальностей оценивалось их мнение о наиболее значимых факторах вероятного риска заражения COVID-19. Также по данным анкетирования производилась оценка значения фактора профессиональной группы (в интервале от 0 до 1), среднего значения времени на контакт с одним пациентом (мин.). среднего расстояния во время контакта медицинского работника до пациента (м). Удалось выявить, что риск заражения новой коронавирусной инфекцией выше у врачей следующих специальностей: педиатрия, терапия, анестезиология-реаниматология, по сравнению с другими медицинскими специалистами. Проведенный корреляционный анализ по Спирмену позволил выявить статистически значимые положительные корреляционные связи между следующими признаками: частотой посещения врачами очагов COVID-19 в день и увеличением времени нахождения в контакте с пациентами COVID-19 в (r=0,23) (среднее время одного контакта во время посещения пациента составляло 5-10 минут (r=0,12), при увеличении численности пациентов в день снижалась доля участия во взятии материала от пациента (r= - 0,31), числом посещений в день врачом очагов и уменьшением расстояния до пациента (r= - 0,21).

Ключевые слова: медицинские работники, COVID-19, социальное дистанцирование, профилактика, оценка риска

ASSESSMENT OF PROBABLE RISK FACTORS FOR COVID-19 INFECTION IN HEALTHCARE WORKERS

E.V. Belova[1], A.I. Lezinova[1], G.V. Nesterov[1]

[1]First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Russia, 119435, Moscow, st. Bolshaya Pirogovskaya, 2, building 2

In a study to assess the probable risk factors for contracting a new coronavirus infection among medical workers of different specialties, their opinions about the most significant factors for the probable risk of contracting COVID-19 were assessed. Also, based on the survey data, the value of the professional group factor was assessed (in the range from 0 to 1), the average value of time for contact with one patient (min.). average distance during contact between a medical worker and a patient (m). It was found that the risk of contracting a new coronavirus infection is

higher among doctors in the following specialties: pediatrics, internal medicine, anesthesiology and resuscitation, compared to other medical specialists. The Spearman correlation analysis made it possible to identify statistically significant positive correlations between the following characteristics: the frequency of doctors visiting COVID-19 outbreaks per day and an increase in the time spent in contact with COVID-19 patients in (r = 0.23) (average time of one contact in the time of visiting the patient was 5-10 minutes (r = 0.12), with an increase in the number of patients per day, the proportion of participation in taking material from the patient decreased (r = - 0.31), the number of doctor visits per day to the lesions and a decrease in the distance to the patient (r= - 0.21).

Keywords: healthcare workers, COVID-19, social distancing, prevention, risk assessment

Обоснование: Основная цель оценки факторов вероятного риса заключается в выявлении потенциальных угроз для здоровья и безопасности населения, определении рисков, связанных с деятельностью работников различных профессий, в том числе и медицинских работников разных специальностей, и оценке эффективности уже существующих мер по их предотвращению.

Цель исследования: Выявить наиболее значимые факторы вероятного риска заражения COVID-19 медицинских работников разных специальностей.

Материалы и методы: Анкетирование проводилось в период пандемии COVID-19 в марте 2021 года методом онлайн заполнения респондентами разработанных анкет в электронном виде.

Респондентами являлись работники здравоохранения, имеющие разную специальность. Анкета включала в себя 3 блока вопросов: 1-й блок был необходим для оценки социально-демографических характеристик респондентов; 2-й блок включал в себя вопросы по выбору направления Роспотребнадзора и лаборатории; 3-й блок характеризовал респондентов по соблюдению социальной дистанции при работе в очагах, с пациентами, времени пребывания в очагах, с пациентом, использование средств индивидуальной защиты в очагах, при работе с 35 пациентами, в коллективе.

Критериями включения являлись совершеннолетние сотрудники, работающие в медицинских организациях, не имеющие на период исследования медицинских ограничений к работе. Все участники дали добровольное согласие на участие в исследовании (выписка из протокола № 05-21 очередного заседания Локального этического комитета от 10.03.2021 г.).

Критерии включения: респондент дал добровольное согласие на проведение анкетирования; родной язык – русский.

Критерии исключения: респондент не дал добровольного согласия на
проведение анкетирования; родной язык – иностранный.

Результаты: По результатам анкетирования, удалось выделить наиболее значимые факторы вероятного риска заражения COVID-19 медицинских работников разных специальностей.

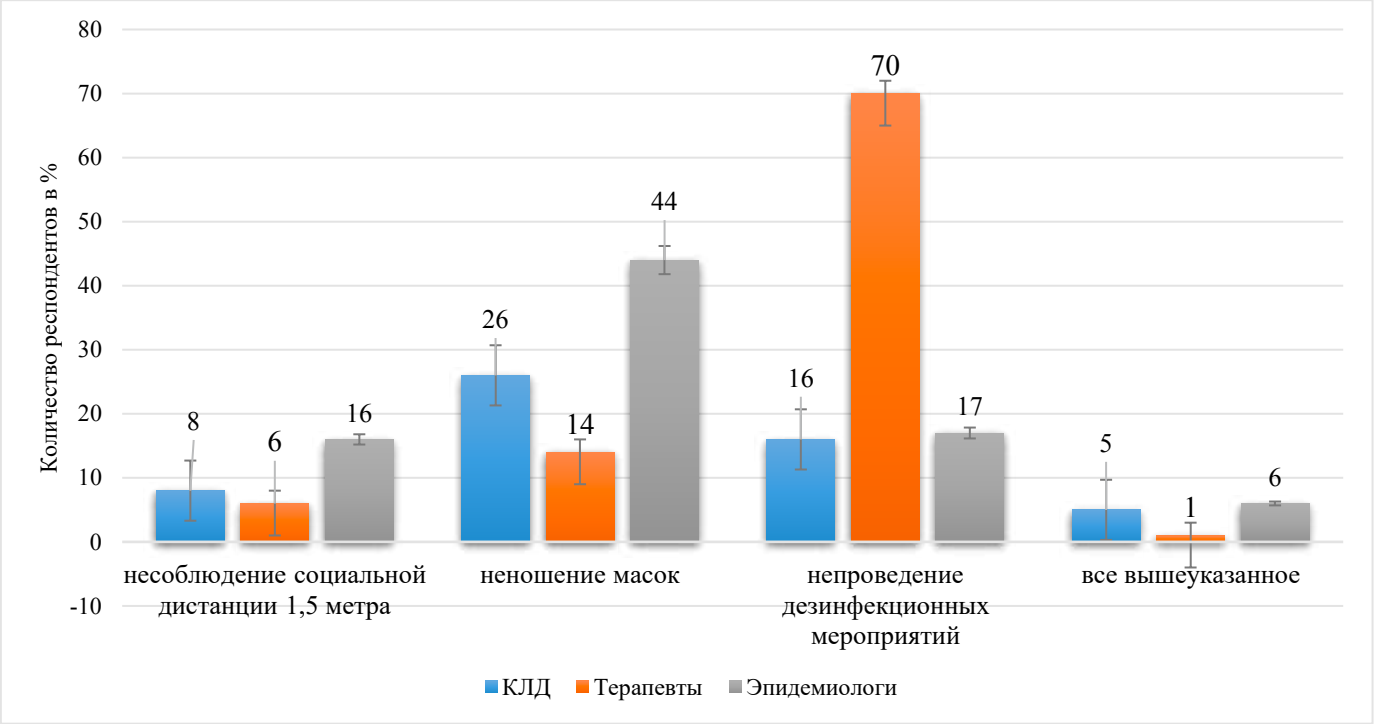


Рисунок 1. Наиболее значимый фактор вероятного риска заражения COVID-19 медицинских работников разных специальностей

По мнению сотрудников клинико-лабораторной диагностики, это неиспользование масок – 26%, непроведение дезинфекционных мероприятий – 16%, несоблюдение социального дистанцирования – 8%, неиспользование перчаток – 3% и все вместе – 5%. Терапевты выделяют: 70% – непроведение дезинфекционных мероприятий, неиспользование масок – 14%, несоблюдение социального дистанцирования – 6%, все вместе – 1%. Эпидемиологи выделяют: неиспользование перчаток – 44%, непроведение дезинфекционных мероприятий – 17%, несоблюдение социального дистанцирования – 16%, неиспользование перчаток – 1% и все вместе – 6%.

Затем проводился анализ факторов риска распространения новой коронавирусной инфекции для медицинских работников разных специальностей

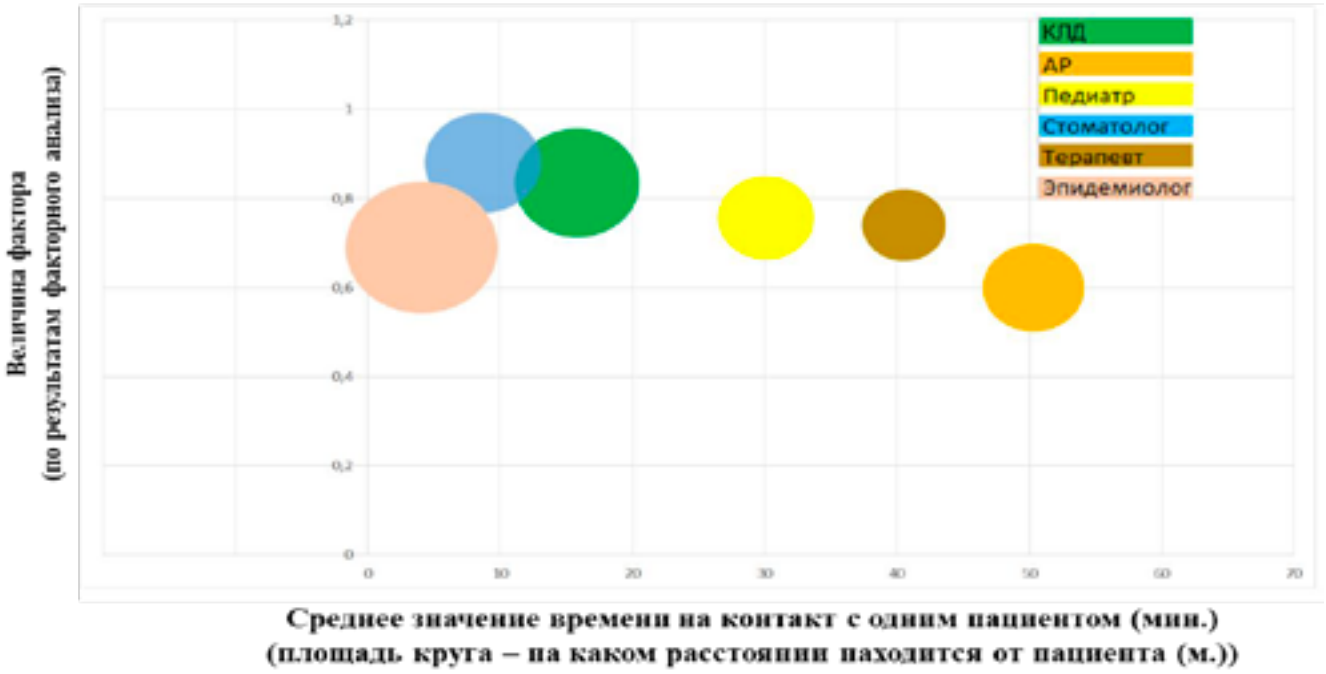


Рисунок 2. Значение фактора профессиональной группы, по шкале «у» (от 0 до 1), среднее значение времени на контакт с одним пациентом (мин.) по шкале «х» и радиусом круга = среднему расстоянию медицинского работника от пациента (м.)

На рисунке 2 представлены значения фактора профессиональной группы (в интервале от 0 до 1), среднее значение времени на контакт с одним пациентом (мин.). Радиус круга равен среднему расстоянию во время контакта медицинского работника до пациента (м).

По данным анкетирования медицинских работников, работающих с пациентами с COVID-19, нами установлено, что врачи–терапевты проводили в контакте с пациентами менее 5 минут (9,3% всех опрошенных), 5–10 минут проводили с пациентом 11,6%, 10–30 минут 36, 4% и более 30 минут 42,6% опрошенных. Среднее расстояние до пациента во время контакта врачи-терапевты оценивали от 0,7 до 0,8 метра, тогда как продолжительность этого общения составляла от 37 до 43 минут.

Врачи–эпидемиологи пребывали в контакте с пациентами до 10 минут в среднем на расстоянии от 0,5 до 0,8 метра.

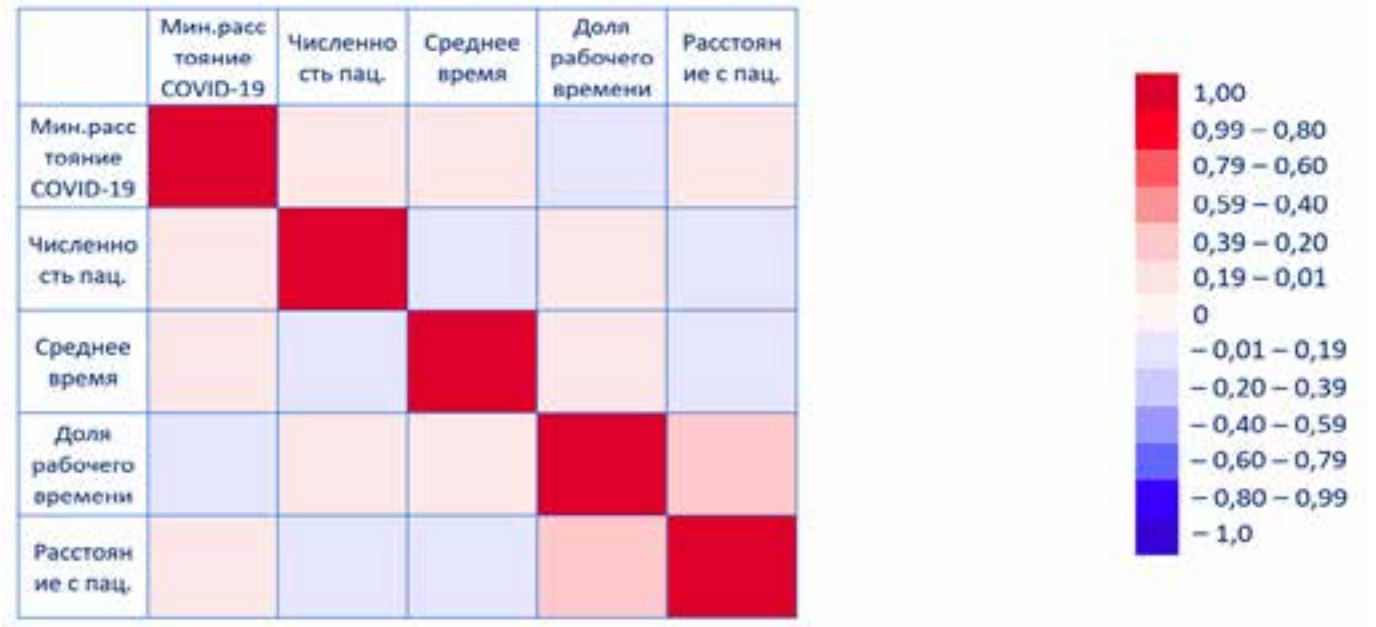
Врачи–стоматологи пребывали в контакте с пациентами от 5 до 15 минут на среднем расстоянии 0,7 до 1,0 метра.

Врачи клинической-лабораторной диагностики пребывали в контакте с пациентами в среднем 13-20 минут на расстоянии, как правило от 0,7 до 0,9 метра.

Врачи–педиатры пребывали в контакте с пациентами от 27 до 33 минут на расстоянии от 0,7 до 0,85 метра.

Врач анестезиологи–реаниматологи пребывали в контакте с пациентами от 47 до 50 минут на расстоянии от 0,5 до 0,7 метра. Таким образом, можно выявить, что выдвинуть предположение, что риск заражения новой коронавирусной инфекцией выше у врачей следующих специальностей: педиатрия, терапия, анестезиология-реаниматология, по сравнению с другими медицинскими специалистами.

Рисунок 3. Корреляция факторов риска распространения новой коронавирусной инфекции со всеми медицинскими специальностями



Проведенный корреляционный анализ по Спирмену позволил выявить статистически значимые положительные корреляционные связи между следующими признаками:

– частотой посещения врачами очагов COVID-19 в день и увеличением времени нахождения в контакте с пациентами COVID-19 в (r=0,23) (среднее время одного контакта во время посещения пациента составляло 5-10 минут (r=0,12);

– доля рабочего времени, которое приходилось на работу с пациентами и частотой соблюдения социального дистанцирования в 1,5 метра с коллегами (r=0,12*);

Наиболее значимым фактором в распространении новой коронавирусной инфекции врачи отметили «не соблюдение социального дистанцирования в 1,5 метра» и «не использование масок» (r=0,14).

Анализ выявил статистически значимые отрицательные корреляционные связи между:

– числом посещений в день врачом очагов и уменьшением расстояния до пациента (r= - 0,21);

– при увеличении численности пациентов в день снижалась доля участия во взятии материала от пациента (r= - 0,31);

– ближе был контакт с пациентом, тем чаще соблюдалось социальное дистанцирование в 1,5 метра с коллегами (r= - 0,15).

Заключение: В результате исследования мнения медицинских работников было выявлено, что наиболее эффективными мерами неспецифической профилактики новой коронавирусной инфекции COVID-19 являются: использование средств индивидуальной защиты, соблюдение социального дистанцирования.

По результатам исследования можно выявить, что врачи, занимающиеся педиатрией, терапией и анестезиологией-реаниматологией, имеют более высокий риск заражения COVID-19 по сравнению с коллегами из других медицинских специальностей.

Источник финансирования

Исследование и публикации статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов

Белова Елена Владимировна - концептуализация и методология;

Лезинова Алина Игоревна - написание — подготовка оригинального проекта;

Нестеров Георгий Владимрович - написание —рассмотрение и редактирование.

Контактная информация

Белова Елена Владимировна, старший преподаватель кафедры общей гигиены Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана Сеченовского Университета [**Elena V. Belova**, Senior Lecturer, Department of General Hygiene, Institute of Public Health named after. F.F. Erisman Sechenov University], адрес: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 2 [First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Russia, 119435, Moscow, st. Bolshaya Pirogovskaya, 2, building 2],

телефон: +7 985 085-39-95, **ORCID:** https://orcid.org/0000-0002-2134-6348; **eLibrary SPIN:** 1940-3504; **e-mail:** belova_e_v@staff.sechenov.ru

Лезинова Алина Игоревна, ассистент кафедры общей гигиены Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана Сеченовского Университета [**Alina I. Lezinova**, assistant professor, Department of General Hygiene, Institute of Public Health named after. F.F. Erisman Sechenov University], адрес: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 2 [First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Russia, 119435, Moscow, st. Bolshaya Pirogovskaya, 2, building 2], телефон: +7 962 209-40-68, **ORCID:** https://orcid.org/0009-0002-1317-7617; **e-mail:** lezinova_a_i_1@staff.sechenov.ru

Нестеров Георгий Владимирович, ассистент кафедры общей гигиены Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана Сеченовского Университета [**Georgy V. Nesterov**, assistant professor, Department of General Hygiene, Institute of Public Health named after. F.F. Erisman Sechenov University], адрес: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 2 [First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Russia, 119435, Moscow, st. Bolshaya Pirogovskaya, 2, building 2], телефон: +7 962 209-40-68, **ORCID:** https://orcid.org/0009-0002-9716-1566; **e-mail:** nesterov_g_v_1@staff.sechenov.ru

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС HIB-ИНФЕКЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

С.О. Высочанская [1,2], А.А. Басов [1,2], Ю.В. Жернов [1,2], А.М. Затевалов[1]

[1]ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

[2]ПМГМУ им И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Актуальность. Несмотря на отмечаемое исследователями [1,2] снижение бремени *Haemophilus influenzae* типа b (Hib), проблема профилактики гемофильной инфекции продолжает оставаться значимой для Российского здравоохранения. Вакцинация против Хиб-инфекции проводилась в нашей стране в рамках календаря прививок по эпидемическим показаниям начиная с 2011 года, а начиная с 2021 года является обязательной в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок. Распространённость практически на всех территориях Российской федерации, широкий спектр клинических форм, сложность лабораторной диагностики, рост антибиотикорезистентности, а также летальности среди детского населения, обуславливают важность совершенствования эпидемиологического надзора и контроля за этой инфекцией [3,4,5].

Целью данной работы являлась оценка современного эпидемического процесса Hib-инфекции в РФ на современном этапе.

Материалы и методы. В работе использовался статистический и эпидемиологический метод исследования. Были проанализированы данные из федеральных отчетных форм №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовая) за 2011 – 2022 гг. и №6 «Сведения о контингентах детей и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний» за 2022 год. Статистическая обработка данных осуществлялась методом кластерного анализа и ранжирования в программе IBM SPSS Statistics, версии 26. Построения графиков проводилось в интегрированной среде разработки R-Studio. Количественное определение антител класса G проводилось с помощью набора реагентов тест-системы ALPHA DIAGNOSTIC INTERNATIONAL Human Anti-Hib-PRP IgG (Hemophilus influenzae type b Polysaccharide, PRP) ELISA Kit. Результаты оценивались в соответствии с инструкцией к тест-системе.

Результаты. По данным на 2022 г. многолетний показатель заболеваемости инфекциями, вызванными *Haemophilus influenza* типа b (Hib) в Российской Федерации, имел стабильные значения. Динамика заболеваемости характеризуется небольшой тенденцией к снижению с периодическими подъемами каждые 2-3 года (рис. 1.).

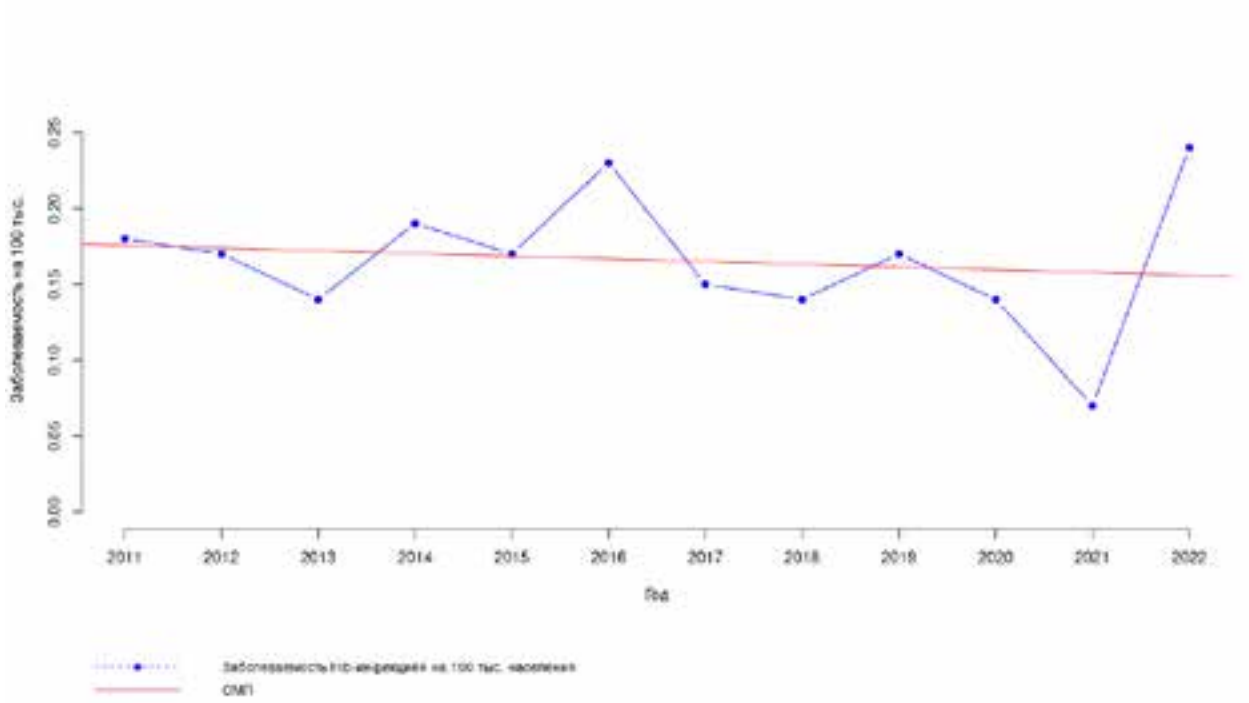


Рис. 1. Заболеваемость Hib-инфекцией с 2011–2022 гг. в Российской Федерации на 100 тыс. населения

В 2016–2021 гг. отмечалось снижение заболеваемости, однако в 2022 г. показатель резко увеличился с 0,07 до 0,24 на 100 тыс. населения (относительно прошлого года в 3,4 раза), что, по всей вероятности, было связано с улучшением надзора за этой инфекцией и увеличением настороженности среди медицинских работников.

За исследуемый период наибольшие показатели заболеваемости, превышающие среднероссийские почти в 80 раз, зарегистрированы в республике Коми (12,11 на 100 тыс. нас.), что предположительно связано с чувствительностью надзора на данной территории. Высокие значения заболеваемости также регистрировались в Вологодской области (2,03 на 100 тыс. нас.), Челябинской области (0,52 на 100 тыс. нас.), г. Москва (0,51 на 100 тыс. нас.) и Пермском крае (0,50 на 100 тыс. нас.). В результате двухэтапного кластерного анализа заболеваемости в РФ в период с 2011 по 2022 гг. в структуре исследуемой совокупности населения были выделены два кластера: доля первого кластера в общей структуре составляла 96,63% (86 субъект), второго кластера-3,37% (три субъекта: Республика Коми, Вологодская область и Мурманская область). Силуэтная мера связанности и разделения составила 0,9, что соответствует хорошему качеству разделения кластеров.

В первый кластер вошли субъекты, показатели заболеваемости в которых были низкими (среднее значение составило 0,50 на 100 тыс. нас.), во втором кластере оказались субъекты с высокими показателями заболеваемости (среднее значение составило 59,57 на 100 тыс. нас.)(рис. 2.).

Рис. 2. Результаты двухэтапного кластерного анализа заболеваемости в субъектах РФ в период с 2011 по 2022 гг.

За анализируемый период на территории РФ случаи смерти от гемофильной инфекции были зарегистрированы в 31 субъектах. Наиболее часто летальные исходы регистрировались в Челябинской области и городе Москва. Показатель летальности среди взрослого населения (0,040) выше аналогичного показателя среди детского (0,029) в 1,37 раза.

Анализ заболеваемости в различных возрастных группах показал, что наибольшая заболеваемость регистрировалась среди детей в возрасте до 1 года (заболеваемость колебалась от 0,6 до 3,7 на 100 тыс.) и 1-2 года (от 0,9 до 3,3 на 100 тыс.). В тоже время, долевое распределение заболевших в 2022 году изменилось по сравнению с 2011 годом (рис. 3).

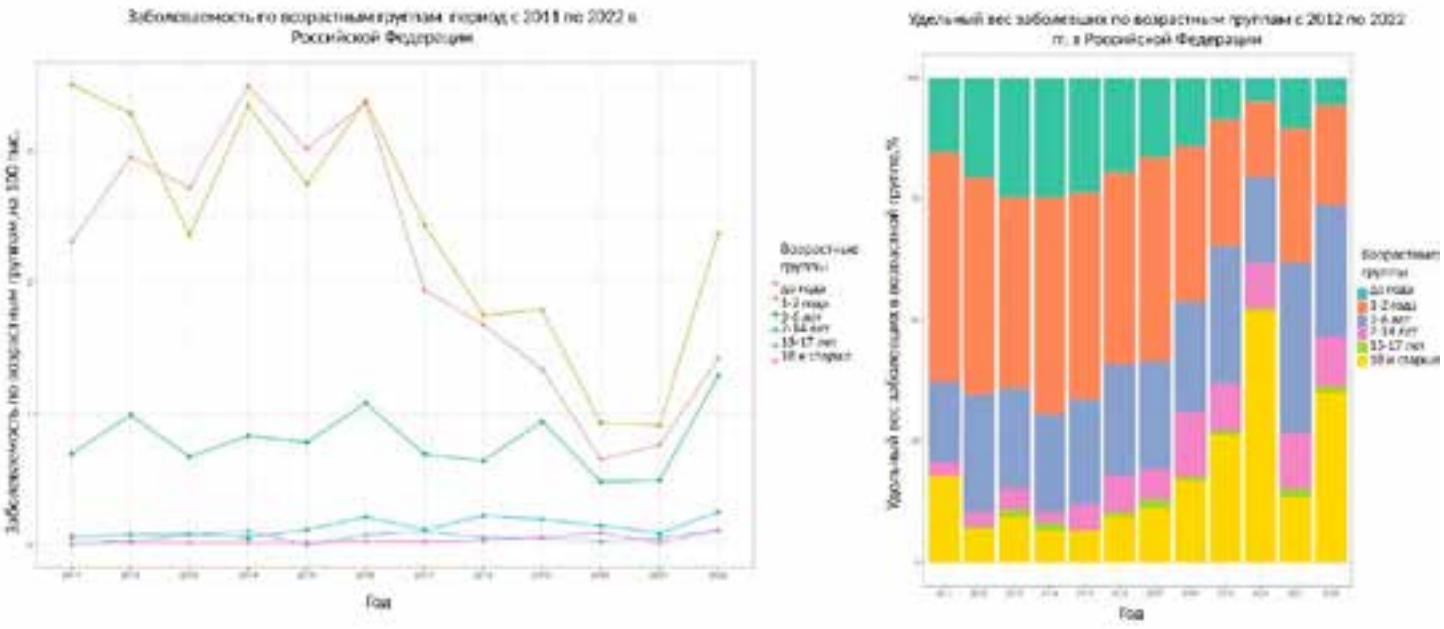


Рис. 3. Заболеваемость в различных возрастных группах в период с 2011 по 2022 гг.

Доля заболевших детей в возрасте до 1 года снизилась с 15,4 до 4,5%, детей в возрастной группе 1-2 года с 47,4 до 11,7%, что вероятно объясняется включением в 2021 году обязательной вакцинации против Hib- инфекции в Национальный календарь профилактических прививок. В тоже время, наблюдается увеличение доли взрослых в структуре заболевших с 17,8% до 63,2%.

Это подтверждает ранжирование возрастных групп по заболеваемости и доле заболевших: основной группой риска в отношении заболеваемости Hib-инфекцией выступают дети в возрасте 1-2 года, однако наибольший вклад в заболеваемость вносят взрослые (18 лет и старше).

В 2022 г. было вакцинировано 1151847 и ревакцинировано 835839 человек. Показатели охватов вакцинацией и ревакцинацией детей в возрасте 12 и 24 месяца в среднем по Российской Федерации составили 88,5% и 66,0% соответственно. Охват вакцинацией более 95% был достигнут в 28 субъектах Российской Федерации, ревакцинацией в 13 субъектах (рис. 4.).

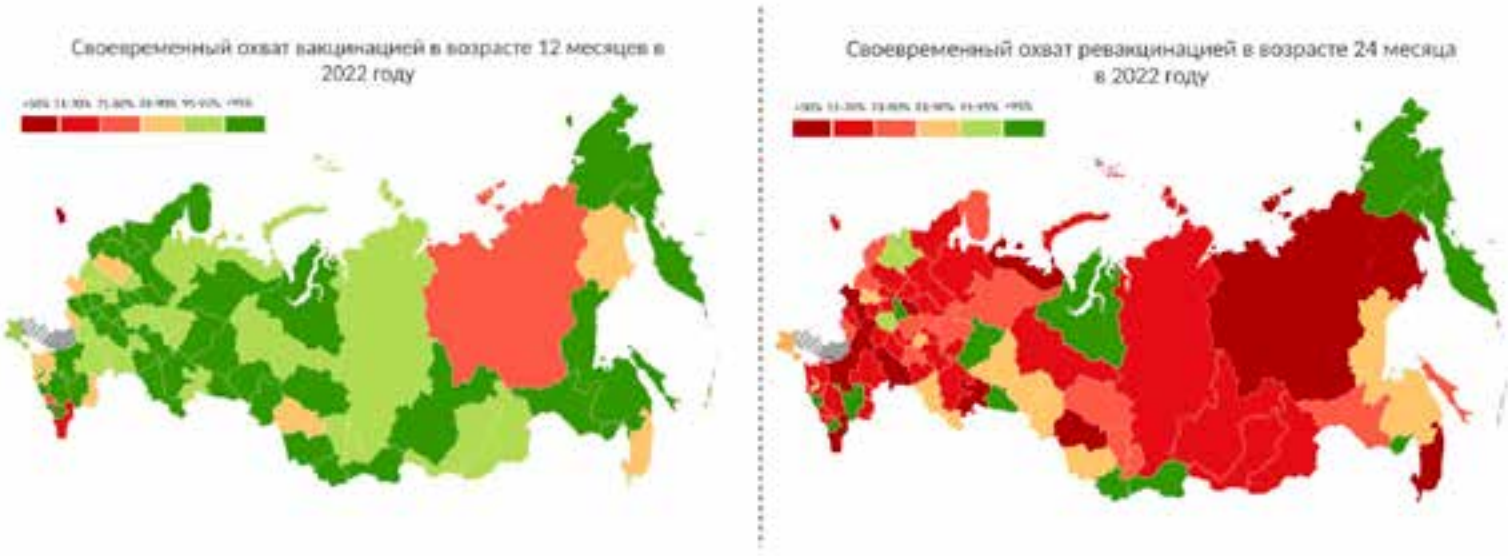


Рис. 4. Показатели охватов вакцинирующими и равакцинирующими прививками в РФ в 2022 г.

С целью оценки состояния специфического иммунитета к Hib - инфекции, нами были изучены сыворотки крови от 84 школьников в возрасте 14-17 лет, с территории, относящейся к первому кластеру низкой заболеваемости Hib-инфекцией (республики Татарстан), на наличие иммуноглобулинов класса G к гемофильной инфекции типа b.

Согласно прививочному анамнезу, все образцы сывороток крови были отобраны у непривитых против Hib-инфекции подростков.

По результатам серологического исследования, 42 образца(50,0%) были сероположительными в отношении гемофильной инфекции типа b (рис.5.) Это может свидетельствовать о скрытой циркуляции возбудителя в популяции и формировании естественного иммунитета у населения уже в школьном возрасте.

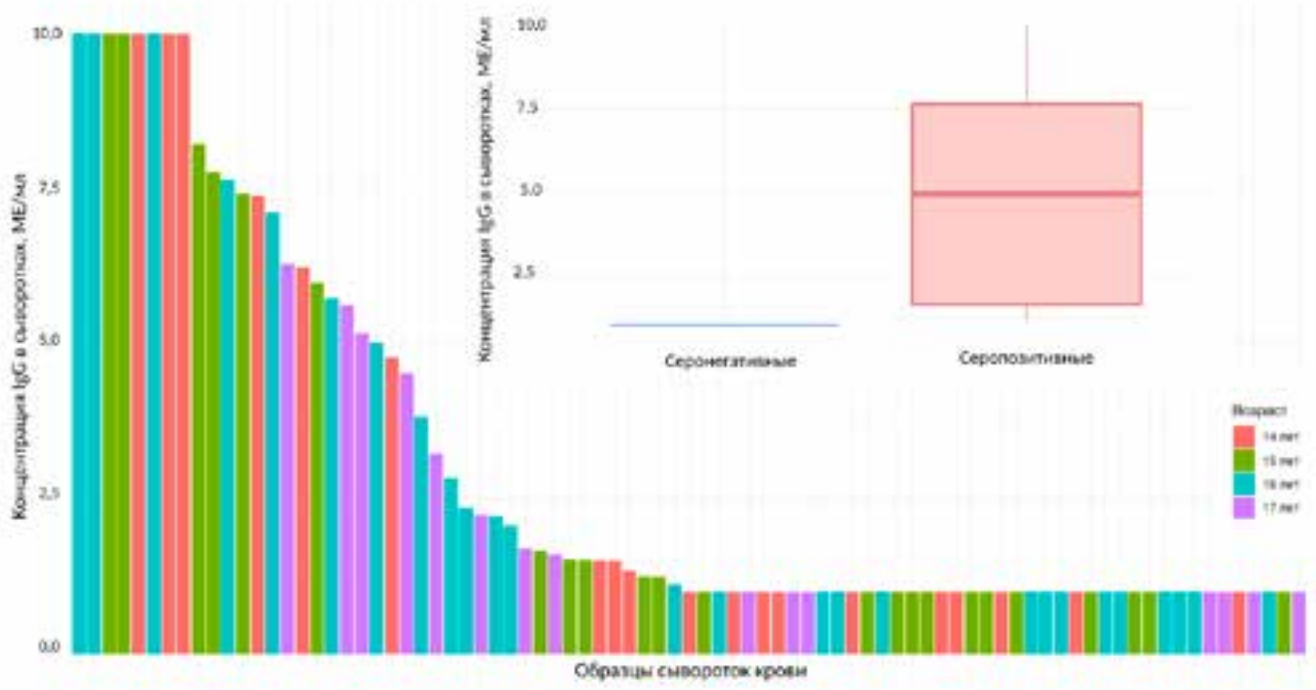


Рис. 5. Результаты определения концентраций антител методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотках крови подростков (14-17 лет) р.Татарстан

Концентрация антител колебалась от 1,3 до 10,0 МЕ/ мл., медиана составила 5,0 МЕ/мл.

Из всех лиц с наличием специфических антител к Hib – инфекции 33,3% - дети в возрасте 14 лет, 26,2% - дети в возрасте 15 лет, 21,4% - 16 лет, 19,0% - 17 лет.

Выводы. Таким образом, гемофильная инфекция продолжает оставаться смертельно опасным заболеванием, регистрируемым каждый год. Основными группами риска являются дети, преимущественно в возрасте первых двух лет жизни. Массовая специфическая вакцинопрофилактика среди детей первого года жизни способствовала перераспределению возрастной структуры заболевших и значительному снижению доли детей в возрастных группах «д года» и «1-2 года». Несмотря на невысокую регистрируемую заболеваемость, наличие специфических антител к Hib – инфекции у непривитых школьников свидетельствуют о скрытой циркуляции возбудителя в популяции и естественном проэпидемичивании населения. Привлечение внимания медицинских работников к этой инфекции, совершенствование диагностики и разработка системы эффективного эпидемиологического надзора, будут способствовать раннему выявлению заболевших, разработке эффективных управленческих решений по профилактике заболеваемости и летальности от гемофильной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. CDC. Pinkbook: Haemophilus Influenzae (Hib) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hib.html (дата обращения: 29 января 2024 г.).
2. World Health Organization. Haemophilus Influenzae Type b (Hib) Vaccination Position Paper [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.who.int/publications-detail-redirect/who-wer8839-413-426 (дата обращения: 29 января 2024 г.).
3. World Health Organization. Haemophilus Influenzae Type b (Hib) Meningitis in the Pre-Vaccine Era : A Global Review of Incidence, Age Distributions, and Case-Fatality Rates; World Health Organization, 2002.
4. Wahl, B.; O'Brien, K.L.; Greenbaum, A.; Majumder, A.; Liu, L.; Chu, Y.; Lukšić, I.; Nair, H.; McAllister, D.A.; Campbell, H.; et al. Burden of Streptococcus Pneumoniae and Haemophilus Influenzae Type b Disease in Children in the Era of Conjugate Vaccines: Global, Regional, and National Estimates for 2000-15. Lancet Glob. Health 2018, 6, e744–e757, doi:10.1016/S2214-109X(18)30247-X.
5. Edmond, K.; Clark, A.; Korczak, V.S.; Sanderson, C.; Griffiths, U.K.; Rudan, I. Global and Regional Risk of Disabling Sequelae from Bacterial Meningitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Lancet Infect. Dis. 2010, 10, 317–328, doi:10.1016/S1473-3099(10)70048-7.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИХ ПЛАТФОРМ В РАБОТЕ ЭПИДЕМИОЛОГА

Г.А. Гасанов, Д.В. Дубоделов, С.В. Углева, В.Г. Акимкин

Центральный НИИ эпидемиологии, Москва, Российская Федерация

Аннотация

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) показала необходимость проведения оперативного эпидемиологического анализа за проявлением эпидемического процесса COVID-19 на территории Российской Федерации. Высокая изменчивость вируса SARS-CoV-2 требовало принятие своевременных управленческих решений для проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий, что в свою очередь требовало оперативного получения достоверной и полной информации. Большой объем данных необходимый для проведения эпидемиологического анализа требовало автоматизации процесса сбора, хранения, передачи и предварительной обработки данных. В связи с этим возникла потребность в разработке инструмента для проведения оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа за COVID-19. Для решения этой задачи в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора были разработаны и запатентованные две программные платформы и две базы данных для проведения эпидемиологического анализа по COVID-19, опыт внедрения которых и возможности представлены в данной статье.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, эпидемиологический анализ, эпидемиологический надзор, BI-система, Superset

THE USE OF INFORMATION AND ANALYTICAL PLATFORMS IN THE WORK OF AN EPIDEMIOLOGIST

G.A. Gasanov, D.V. Dubodelov, S.V. Ugleva, V.G. Akimkin

Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protectionand Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation

Abstract

The pandemic has shown the need to conduct operational epidemiological analysis of the manifestation of the COVID-19 epidemic process on the territory of the Russian Federation. The high variability of the SARS-CoV-2 virus required timely management decisions to carry out preventive and anti-epidemic measures, which in turn required the prompt receipt of reliable and complete information. The large amount of data required for epidemiological analysis required automation of the process of data collection, storage, transmission and pre-processing. In this regard, there was a need to develop a tool for conducting rapid and retrospective epidemiological

analysis of COVID-19. To solve this problem, the Central Research Institute of Epidemiology has developed and patented two software platforms and two databases for conducting epidemiological analytics on COVID-19, the implementation experience and capabilities of which are presented in this article.
Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, BI system, Epidemiological Monitoring

Обсуждение

В настоящее время продолжаются исследования, касающиеся различных направлений противодействия инфекции, таких как разработка методов диагностики, профилактики, лечения и т.д. [1-5]. Необходимость обработки большого объема информации и многообразие источников информации, используемой для оценки эпидемиологической ситуации и проведения оперативного эпидемиологического анализа, обусловливает необходимость создания единой программной платформы для сбора, обработки данных и их дальнейшего анализа. Также чрезвычайно важным является оценка динамики распространения известных и новых геновариантов SARS-CoV-2, циркулирующих на территории России, как в целом, так и на отдельных её территориях [6, 7]. Одним из важных аспектов борьбы с COVID-19 является изучение закономерностей, присущих эпидемическому процессу данной инфекции, и разработка системы эпидемиологического надзора за распространением вариантов нового коронавируса SARS-CoV-2 на основе полученной информации, как на территории страны в целом, так и на отдельных ее территориях.

Подсистема сбора, учета и хранения информации в рамках эпидемиологического надзора за COVID-19 в настоящий момент включают в себя сбор сведений о заболеваемости – отчетная форма 1035 «Мониторинг количества заболевших коронавирусной инфекцией, в том числе внебольничными пневмониями, и летальных исходов» и данные о динамике COVID-19 взяты с сервиса визуализации и анализа данных Yandex DataLens [8]; результаты эпидемиологических расследований случаев заболевания – отчетная форма 970 «Информация о случаях инфекционных заболеваний у лиц с подозрением на новую коронавирусную инфекцию»; результаты лабораторных исследований ПЦР на SARS-CoV-2 – сведения о результатах ПЦР-исследований из более 1 800 лабораторий (более 194 миллионов результатов); сведения о циркуляции геновариантов – отчетная форма 1248 «Результаты молекулярно-генетического мониторинга изолятов SARS-CoV-2», сведения о результатах молекулярно-генетического мониторинга от 46 организаций, осуществляющих секвенирование (более 310 тысяч генетических последовательностей вируса SARS-CoV-2 загруженных на платформу VGARus по состоянию на 25.01.2024 года).

Многообразие источников информации, используемой для оценки эпидемиологической ситуации, обусловливает необходимость создания единой программной платформы для обработки данных и их дальнейшего анализа.

Необходимость использования BI-систем при проведении эпидемиологического анализа возникает при организации командной работы по изучению больших объемов информации, связанных с постоянной оценкой эпидемиологической обстановки. В 2021 году в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора появилась необходимость в таком инструменте и была поставлена задача разработки инструмента для проведения оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа за новой коронавирусной инфекцией. В ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в 2021 году разработана, а в 2022 году получен патент на программу (номер свидетельства: RU 2021667476) и базу данных (номер свидетельства: RU 2021622334) для визуализации и оперативного эпидемиологического анализа сведений о распространении COVID-19 [9, 10]. Внедрение в работу подобной BI-системы позволил сократить затрачиваемое время на проведение эпидемиологического анализа о распространении COVID-19 с нескольких суток до пары часов, смещает фокус внимания исследователя со сбора и предварительной обработки данных на их анализ.

Программа разработана на базе BI системы Qlik Sense – это набор инструментов и технологий для сбора, анализа и обработки данных. Программа предназначена для обобщения информации из различных источников, расчёта статистических показателей и визуализации данных с целью осуществления оперативного и ретроспективного анализа заболеваемости и распространения COVID-19 в РФ.

Программа Qlik Sense содержит скрипты, которые позволяют загружать и трансформировать данные из базы данных по заданным алгоритмам, а также визуализировать информацию в графическом и табличном представлении с использованием технологии BI. Программа предназначена для эпидемиологического анализа заболеваемости по новой коронавирусной инфекции (COVID-19), мониторинга распространения геновариантов SARS-CoV-2, эпидемиологического прогнозирования развития ситуации в РФ.

База данных предназначена для построения эпидемиологической аналитики по новой коронавирусной инфекции (COVID-19). База содержит структурированную в разрезе субъектов РФ, регионов и дает информацию о динамике заболеваемости, тяжести и клинической форме, гендерно-возрастной структуре, геновариантам, соотношении заражений/летальных исходов; а также международные данные ВОЗ о заражениях и летальности в разрезе стран и дат, данные о численности стран/субъектов РФ для расчета

относительной статистики. Источники информации для формирования базы данных могут иметь различную структуру организации, формат доступа к ним и быть представлены в виде ежедневных, ежемесячных и ежегодных форм федерального статистического наблюдения, сведения из специализированных отчетных форм и репортов, результаты молекулярно-генетического мониторинга изолятов SARS-CoV-2, демографических сведений Росстат и др. На следующем этапе происходит обработка собранных данных, извлечение, преобразование и складирование данных в единую базу данных. Затем BI-инструмент преобразовывает информацию в графики, таблицы и предоставляет наглядную информацию через Web-интерфейс или настольную версию программы. Схематическое представление о структуре платформы представлено на рисунке 1.

Рисунок 1. Схема информационно-аналитической системы для эпидемиологического анализа по COVID-19

После года эксплуатации инструмента для эпидемиологического анализа на базе BI-системы Qlik Sense, произошел переход на новое программное обеспечение – Superset. Superset предоставляет те же возможности, что и Qlik Sense – автоматический сбор, предварительную обработку и визуализацию данных из различных источников. Из преимуществ следует отметить, что Superset – это современная платформа для исследования и визуализации данных с открытым исходным кодом, т.е. не требует для своей работы регулярного продления подписки или покупки лицензии, а также позволяет одновременную работу в системе сразу нескольких пользователей. В 2023 году получен патент на программу (номер свидетельства: RU 2023664835) и базу данных (номер свидетельства: RU 2023622191) для визуализации и оперативного эпидемиологического анализа сведений о распространении COVID-19 [11, 12].

Разработанная система позволяет агрегировать информацию из разрозненных источников в единую базу с предоставлением доступа к данным всем привлекаемым к работе специалистам, гибко настраивать параметры отбора и расчета дополнительных показателей, широко использовать элементы визуализации, что позволяет значительно

расширить аналитические возможности при проведении оперативного и ретроспективного анализа заболеваемости (рис. 2).

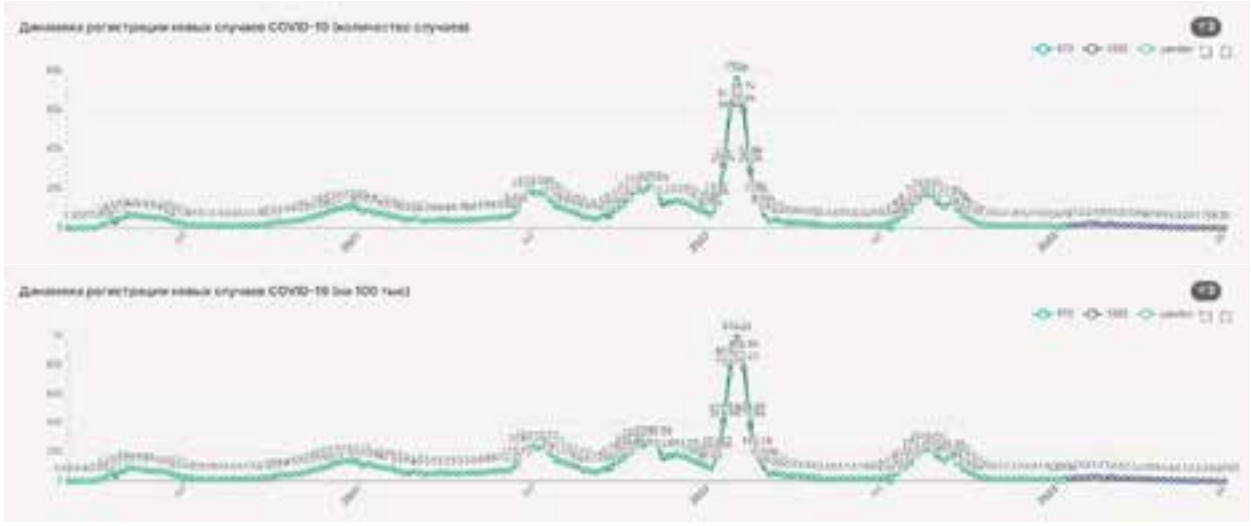


Рисунок 2. Визуализация данных заболеваемости COVID-19 в МО из различных источников (абсолютные и интенсивные показатели)

Разработанная система позволяет визуализировать данные о гендерно-возрастной структуре, тяжести и клинических формах заболевания. Пересчет показателей заболеваемости на 100 тысяч в гендерно-возрастной группе производится автоматический (рис. 3).

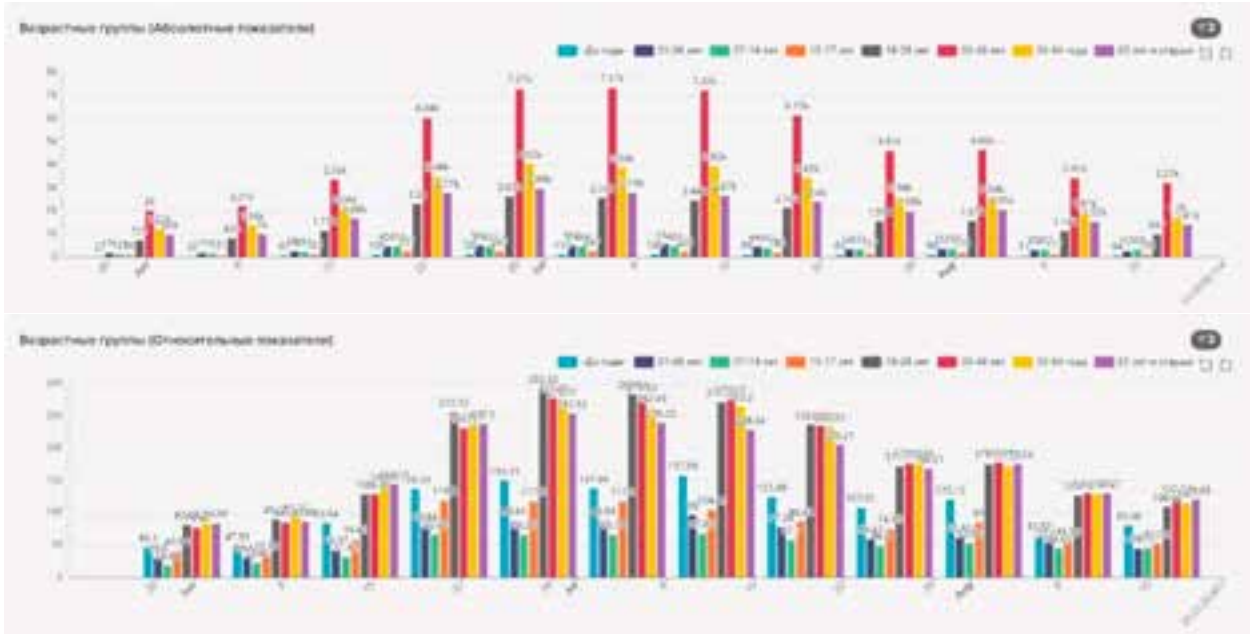


Рисунок 3. Пример визуализации данных возрастной структуры заболевших COVID-19 в МО за период с 31.05.2021 по 15.08.2021 гг. (абсолютные и интенсивные показатели)

Сведения о тяжести и формах заболевания выводятся в соответствии с настроенным ранее фильтром по субъекту и анализируемому периоду (рис. 4).

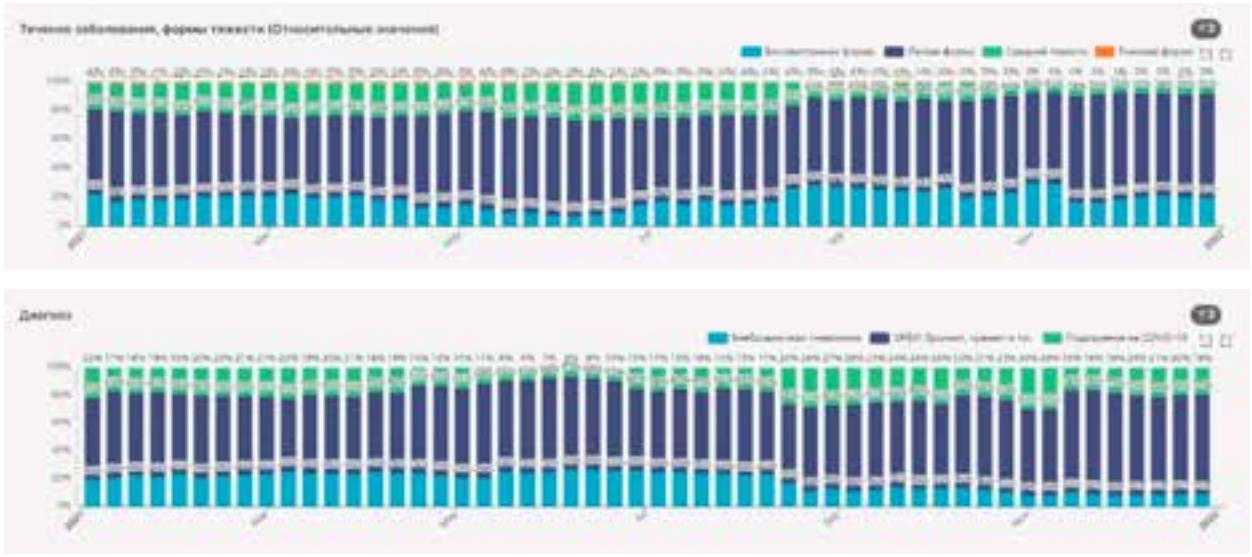


Рисунок 4. Пример визуализации данных о тяжести и клинических формах заболевания заболевших COVID-19 в МО за 2021 год

Данные молекулярно-генетического мониторинга изолятов SARS-CoV-2 из аналитической платформы VGARus загружаются автоматически с определенной периодичностью. Реализована возможность группировки данных по разным полям (например, по дате забора материала или дате готовности результата) (рис. 5).

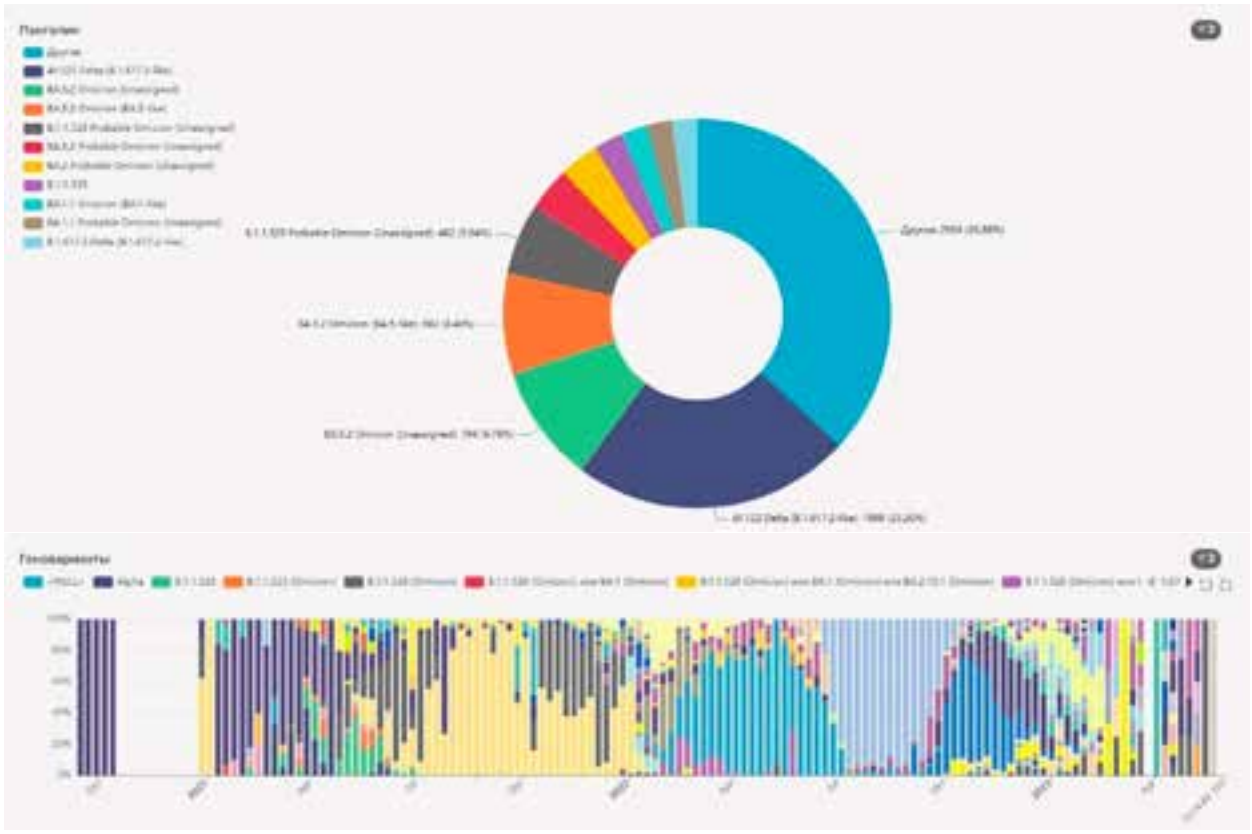


Рисунок 5. Визуализации данных о геновариантах SARS-CoV-2 выявленных на территории МО с 38 недели 2020 г. по 20 неделю 2023 г.

Аналитическая платформа оперативно и с минимальными затратами времени (несколько часов) способна осуществлять оценку уровня и динамики заболеваемости COVID-19 на территории каждого субъекта РФ с учетом разделения на гендерно-возрастные группы, клинические формы заболевания и особенности структуры циркулирующих на данной территории геновариантов. Дает возможность выявлять наиболее неблагополучные территории и определять тенденцию развития эпидемического процесса, а также проводить анализ циркулирующих геновариантов вируса SARS-CoV-2, позволяющий динамически отслеживать смену доминирующих геновариантов и характер их циркуляции по всем регионам РФ. Указанная программа дает вести активный поиск новых геновариантов вируса SARS-CoV-2 с проведением их полногеномного анализа и установлением особенностей генома, кроме того, выявлять предикторы неблагоприятного развития эпидемической ситуации в субъектах РФ.

Заключение

Таким образом, за время распространения COVID-19 появилась необходимость использования BI-систем при проведении эпидемиологического анализа в случае, когда требуется командная работа по изучению больших объемов информации, связанных с постоянной оценкой эпидемиологической обстановки. Программы для оперативного эпидемиологического анализа имеют широкий спектр возможностей, которые позволяют проводить различные виды анализа данных и получать ценную информацию о распространении заболевания COVID-19. Одной из основных возможностей таких программ является анализ временных рядов заболеваемости. Это позволяет выявлять тенденции в распространении инфекции, определять пики заболеваемости и прогнозировать дальнейшее развитие эпидемии.

Кроме того, программы для оперативного эпидемиологического анализа позволяют проводить анализ эпидемических очагов. Это позволяет выявлять места скопления заболевших и определять факторы, которые способствуют распространению инфекции, проводить анализ данных по контактным лицам и выявлять людей, которые могут быть заражены, и принимать меры по их изоляции и лечению.

Платформа позволяет проводить анализ данных по мерам, принимаемым для предотвращения распространения инфекции, дает возможность оценить эффективность противоэпидемических мер и принимать решения о необходимости введения дополнительных мер.

Использование Superset позволяет проводить как оперативный, так и ретроспективный эпидемиологический анализ. В случае оперативного эпидемиологического анализа в краткие сроки помогает решать следующие задачи:

слежение за уровнем, структурой и динамикой заболеваемости среди населения обслуживаемой территории; оценка эпидемической обстановки; обоснование и проверка гипотез о возможных факторах риска, определяющих развитие эпидемического процесса в данный период. При проведении ретроспективного эпидемиологического анализа дает возможность для следующих действий: оценки уровня и структуры инфекционной заболеваемости и других показателей (смертность, инвалидность, нетрудоспособность); анализа многолетней динамики заболеваемости; анализа годовой динамики заболеваемости (уровень круглогодичной заболеваемости, сроки начала и окончания сезонных подъемов и др., заболеваемость за периоды эпидемических вспышек); анализа заболеваемости по факторам риска (возрастные, профессиональные, социальные и др.).

В результате данная платформа имеет широкий спектр возможностей для проведения оперативного эпидемиологического анализа, что позволяет оперативно реагировать на изменения в эпидемической ситуации. В результате организации и использования платформы Superset для проведения эпидемиологического анализ стало ясно, что все подсистемы эпидемиологического надзора претерпели изменения и были объединены в единый эпидемиологический инструмент (рис. 6).

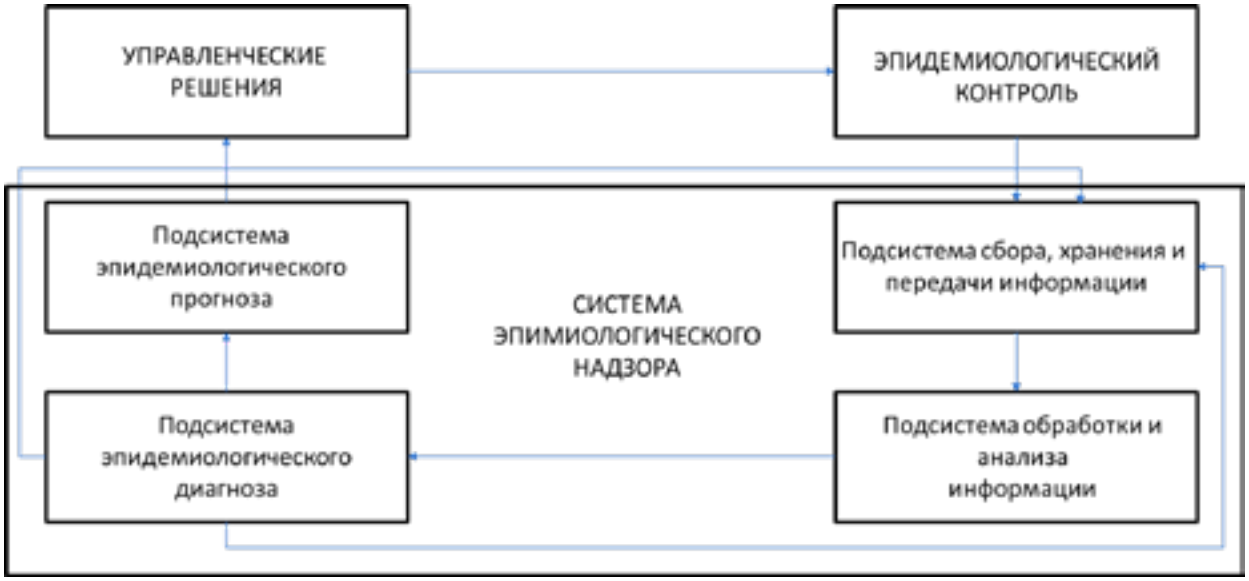


Рисунок 6. Схема системы эпидемиологического надзора и управления эпидемическим процессом

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена за счет бюджетных средств организации по месту работы авторов.

Участие авторов

Г.А. Гасанов — написание текста, редактирование статьи на этапе подготовки к публикации; Д.В. Дубоделов — подбор методик, разработка концепции исследования; С.В.

Углева — разработка концепции исследования, написание текста, редактирование статьи на этапе подготовки к публикации; В.Г. Акимкин — разработка концепции исследования.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Плоскирева А.А., Углева С.В., Семененко Т.А., Пшеничная Н.Ю., Ежлова Е.Б., Летюшев А.Н., Демина Ю.В., Кузин С.Н., Дубоделов Д.В., Хафизов К.Ф., Заволожин В.А., Андреева Е.Е., Микаилова О.М., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Троценко О.Е., Балахонов С.В., Рудаков Н.В., Куличенко А.Н., Максютов Р.А., Тотолян А.А., Носков А.К., Зайцева Н.Н., Ананьев В.Ю., Ковалев Е.В., Молдованов В.В., Воронин Е.М., Кравцов О.А., Глазов М.Б., Остроушко А.А., Гасанов Г.А., Сванадзе Н.Х., Корабельникова М.И., Клушкина В.В., Черкашина А.С., Миронов К.О., Есьман А.С., Сычева Н.В., Овчинникова В.С., Лукьянов А.В., Мурадова А.А. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение I: проявления эпидемического процесса COVID-19 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2022. - Т. 99. - №3. - С. 269-286. doi: 10.36233/0372-9311-276
2. Ризаев Ж. А., Умиров С. Е. Основы обеспечения адекватной организации профилактики Covid-19 //Проблемы биологии и медицины. – 2021. – Т. 2. – с. 127.
3. Самитова Э. Р. Клинико-эпидемиологические особенности течения COVID-19 у детей в периоды подъема заболеваемости в Москве в 2020–2022 годы //Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2022. – Т. 21. – №. 5. – С. 38-48.
4. Ma H., Wang Z., Zhao X., Han J., Zhang Y., Wang H., Chen C., Wang J., Jiang F., Lei J., et al. Long Distance Transmission of SARS-CoV-2 from Contaminated Cold Chain Products to Humans-Qingdao City, Shandong Province, China, September 2020. China CDC Wkly. 2021;3:637–644. doi: 10.46234/ccdcw2021.164.
5. Development and Application of Real-Time PCR-Based Screening for Identification of Omicron SARS-CoV-2 Variant Sublineages / A. Esman, D. Dubodelov, K. Khafizov [et al.] // Genes. – 2023. – Vol. 14, No. 6. – P. 1218. – DOI 10.3390/genes14061218.
6. Стародубов В.И., Береговых В.В., Акимкин В.Г., Семененко Т.А., Углева С.В., Авдеев С.Н., Зыков К.А., Трофимова Т.Н., Погосова Н.В., Переходов С.Н., Кузин С.Н., Яцышина С.Б., Петров В.В., Хафизов К.Ф., Дубоделов Д.В., Гасанов Г.А., Сванадзе Н.Х., Черкашина А.С., Синицын Е.А., Рвачева А.В., Сергеева Н.В., Полосова Т.А., Зыкова А.А., Зеленин Д.А., Горбенко М.Ю., Родюкова И.С., Чаус Н.И., Сницарь А.В. COVID-19 в России: эволюция взглядов на пандемию. Сообщение 2 // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2022. - Т. 77. - №4. - С. 291-306. doi: 10.15690/vramn2122

7. Акимкин В.Г., Семененко Т.А., Углева С.В., Дубоделов Д.В., Кузин С.Н., Яцышина С.Б., Хафизов К.Ф., Петров В.В., Черкашина А.С., Гасанов Г.А., Сванадзе Н.Х. COVID-19 в России: эпидемиология и молекулярно-генетический мониторинг // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2022. - Т. 77. - №4. - С. 254-260. doi: 10.15690/vramn2121
8. https://datalens.yandex.ru/ Дата обращения 25.01.2024 г.
9. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622334 Российская Федерация. Централизованная база данных для построения эпидемиологической аналитики по новой коронавирусной инфекции (COVID-19): № 2021622274: заявл. 26.10.2021: опубл. 29.10.2021 / Д. В. Дубоделов, Е. В. Савельер, А. А. Плоскирева [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
10. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021667476 Российская Федерация. Эпидемиологическая аналитика по новой коронавирусной инфекции (COVID-19): № 2021666838: заявл. 26.10.2021: опубл. 29.10.2021 / Д. В. Дубоделов, Е. В. Савельер, А. А. Плоскирева [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023622191 Российская Федерация. «Сведения эпидемиологического характера для функционирования аналитической платформы для анализа эпидобстановки по новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»: № 2023621883: заявл. 23.06.2023: опубл. 03.07.2023 / Д. В. Дубоделов, А. А. Плоскирева, В. Г. Акимкин [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
12. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021667476 Российская Федерация. Эпидемиологическая аналитика по новой коронавирусной инфекции (COVID-19): № 2021666838: заявл. 26.10.2021: опубл. 29.10.2021 / Д. В. Дубоделов, Е. В. Савельер, А. А. Плоскирева [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И РЕГИОНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СМЕРТНОСТИ ОТ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ОЖИДАЕМОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ НАСЕЛЕНИЯ РФ, ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ КОМПЛЕКСОМ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ

М.В. Глухих, С.В. Клейн, Н.В. Зайцева

Ключевые слова: факторы среды обитания, факторы риска, болезни системы кровообращения, ожидаемая продолжительность жизни, ОПЖ, неинфекционные заболевания, эпидемиология неинфекционных заболеваний

Актуальность. Эпидемиология неинфекционных заболеваний с установлением территорий, групп и факторов риска является одним из актуальных направлений исследовательских задач в области профилактической медицины [1, 2, 3, 4, 5]. Наиболее значимым классом среди неинфекционных заболеваний являются болезни системы кровообращения (далее БСК), которые являются ведущей причиной смертности населения во всём мире на протяжении последних десятилетий [6]. Особенностью данной группы патологий является высокая доля модифицируемых, в том числе поведенческих факторов риска в структуре причин их возникновения и развития [7], которые могут быть успешно нивелированы проведением медико-профилактических мероприятий [8]. Несмотря на тенденции к снижению уровней данной патологии имеются предпосылки к «омоложению» БСК [9]. Существует выраженная пространственная дифференциация в отношении рассматриваемого класса заболеваний, обусловленная процессами глобализации, урбанизации, демографического старения, которые приводят к увеличению распространённости неинфекционных заболеваний среди населения развивающихся стран [10, 11]. Официально завершившаяся пандемия COVID-19 ничуть не снизила значимость неинфекционных заболеваний, а выявила необходимость концентрации большего внимания к ним, т.к. зачастую в группе риска оказывались люди, анамнез которых отягощён наличием хронических неинфекционных заболеваний [12, 13]. Обобщённым (интегральным) показателем медико-демографической ситуации в целом на территории является ожидаемая продолжительность жизни при рождении (далее ОПЖ) – показатель, который часто используется в качестве целевого ориентира при составлении планов развития территорий, оценки эффективности комплекса проводимых мер социально-

экономической политики. В частности в Российской Федерации на повестке дня стоит вопрос[1,2] увеличения численности населения, снижения смертности по причине БСК и др. Мультифакториальность причин и условий возникновения и развития БСК определяет направления исследовательских задач на поиск приоритетных, наиболее значимых факторов риска. Помимо этого обширный набор зачастую взаимообуславливающих друг друга факторов осложняет корректное определение истинной значимости отдельных факторов (групп факторов), в связи с чем широкое распространение получают методы многомерного анализа данных. Таким образом, **целью настоящего исследования** являлось установление эпидемиологических особенностей и пространственной дифференциации показателей смертности по причине БСК населения РФ с оценкой показателя ОПЖ и выявлением приоритетных групп модифицирующих факторов среды обитания.

Для достижения цели исследования поставлен ряд задач: определение уровней, динамики, структуры и пространственной дифференциации БСК за период 2010–2019 гг.; установление степени влияния комплекса и групп факторов среды обитания на показатели смертности по причине БСК по ретроспективным данным 2010–2019 гг.; оценка пространственной дифференциации смертности и показателя ОПЖ по субъектам РФ.

Материалы и методы. Исходными данными для построения модели и ретроспективного анализа показателей смертности по причине БСК и ОПЖ являлись: официальная статистическая информация Федеральной службы государственной статистики (Росстат), данные ведомственной статистики (Минздрав РФ, Роспотребнадзор) за период 2010–2019 гг. (до пандемии COVID-19) в разрезе 85 субъектов РФ. Модель для установления причинно-следственных связей между показателями смертности по причине БСК и факторами среды обитания и образа жизни построена согласно методике, подробно изложенной в предыдущих работах авторов [14, 15]. Итоговая модельная система включала в себя 18 нейросетевых моделей (согласно возрастным группам 0-4 года, 5-9 лет, …, 85 лет и старше), построенных по алгоритму FA-ANN [16], подразумевающему предварительное факторное преобразование исходного набора данных (детерминирующих процесс факторов). Коэффициенты детерминации моделей для рассматриваемых возрастных групп находились в диапазоне от 0,01 до 0,75.

Общее количество показателей, отражающих факторы среды обитания и образа жизни, модифицирующих показатели повозрастной смертности по причине БСК, составило 206 единиц, объединённых в единую матрицу данных, которая условно поделена на 7 групп: показатели санитарно-эпидемиологического благополучия населения (63 ед.), показатели образа жизни (30 ед.),

[1] "Единый план по достижению национальных целей развития Российской Федерации на период до 2024 года и на плановый период до 2030 года" (утв. распоряжением Правительства РФ от 01.10.2021 N 2765-р)
[2] Указ Президента РФ от 21.07.2020 N 474 "О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года"

социально-демографические (34 ед.), экономические показатели (14 ед.), показатели системы здравоохранения (9 ед.), показатели первичной заболеваемости населения по возрастным группам (детское население, население трудоспособного и старше трудоспособного возраста) по основным классам заболеваний (48 ед.) и погодно-климатические показатели (8 ед.). Получение оценок степени влияния различных групп факторов среды обитания и образа жизни на исследуемые показатели общественного здоровья осуществлялось на основе сценарного прогнозирования изменения данных показателей, выполненного в несколько этапов: задание базового (фактические значения показателей за 2010 г.) и целевого (фактические значения показателей за 2019 г.) сценариев; расчёт разности в уровнях смертности по причине БСК между сценариями в анализируемых возрастных группах (18 групп); расчёт показателя ОПЖ с использованием кратких таблиц смертности. Для оценки динамики показателей смертности по причине БСК использован эпидемиологический анализ.

Результаты и их обсуждение. За период 2010–2019 гг. до момента распространения COVID-19 на территории РФ смертность всего населения по причине БСК снизилась на 29,37 % (средний темп убыли составил 3,77 %) (рис. 1). Тенденции снижения как общей смертности, так и смертности по причине БСК, наблюдаемые в последнее десятилетие, положительно сказываются на росте показателя ОПЖ, что подтверждается данными[3] статистики.

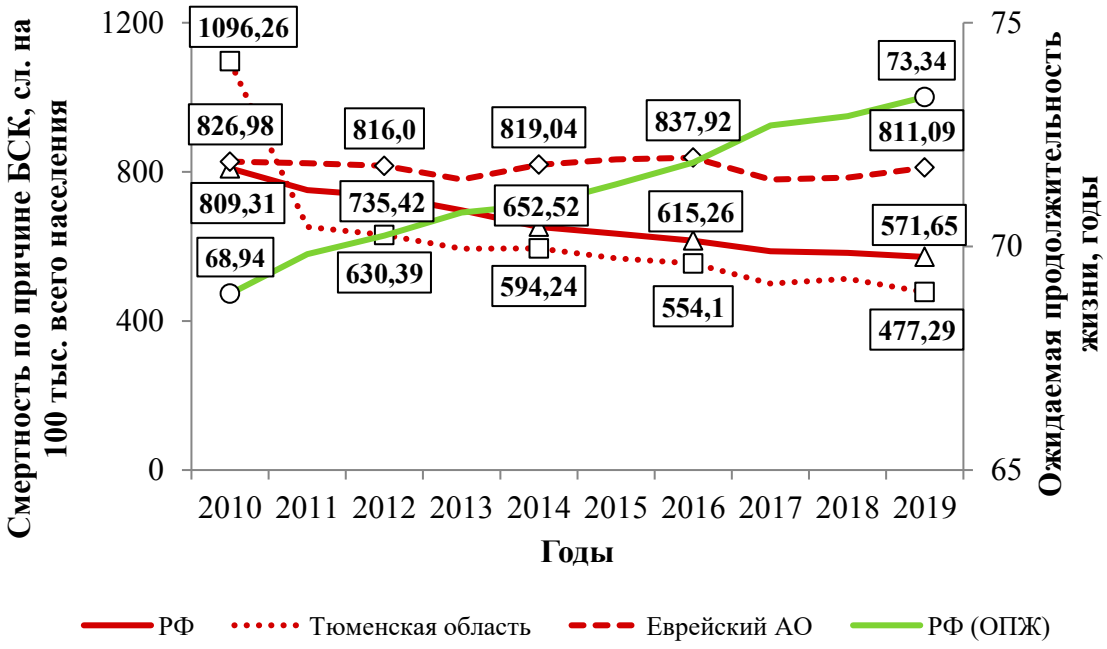


Рис. 1. Динамика изменения ОПЖ и уровней повозрастной смертности по причине БСК на территории Российской Федерации и её субъектов с наибольшим и наименьшим темпами убыли смертности по данной причине за 2010–2019 гг., годы и сл. на 100 тыс. всего населения соответственно

[3] Регионы России. Социально-экономические показатели. 2023: Р32 Стат. сб. / Росстат. – М., 2023. – 1126 с.

Среди регионов России наибольшее снижение коэффициентов смертности за исследуемый период установлено на территории Тюменской области – 56,46 % (средний темп убыли – 7,84 %), наименьшее – в Еврейской автономной области – 1,92 % (средний темп убыли составил – 0,15 %) (рис. 2). Несмотря на положительную в целом динамику снижения показателей смертности, выявленные территориальные различия по-прежнему согласуются с явлением северо-восточного градиента нарастания смертности [17].

Рис. 2. Пространственное распределение средних темпов убыли уровней смертности по причине БСК среди субъектов Российской Федерации за 2010–2019 гг., %

Согласно результатам моделирования установлено, что совокупное влияние за рассматриваемый период всех исследуемых показателей среды обитания и образа жизни на показатели повозрастной смертности по причине БСК среди регионов России определило рост показателя ОПЖ в диапазоне от 0,92 года (Новосибирская область) до 6,61 года (Чеченская Республика) (рис. 3). Диапазон фактического изменения показателя ОПЖ за данный период находился от 2,9 года в Белгородской области до 10,6 года в Чукотском автономном округе (и, в частности, в Новосибирской области – 2,97 года, в Чеченской Республике 4,33 года), что отражает как степень обусловленности роста показателя ОПЖ в результате снижения повозрастной смертности по причине БСК, так и их ассоциированность с факторами среды обитания и образа жизни.

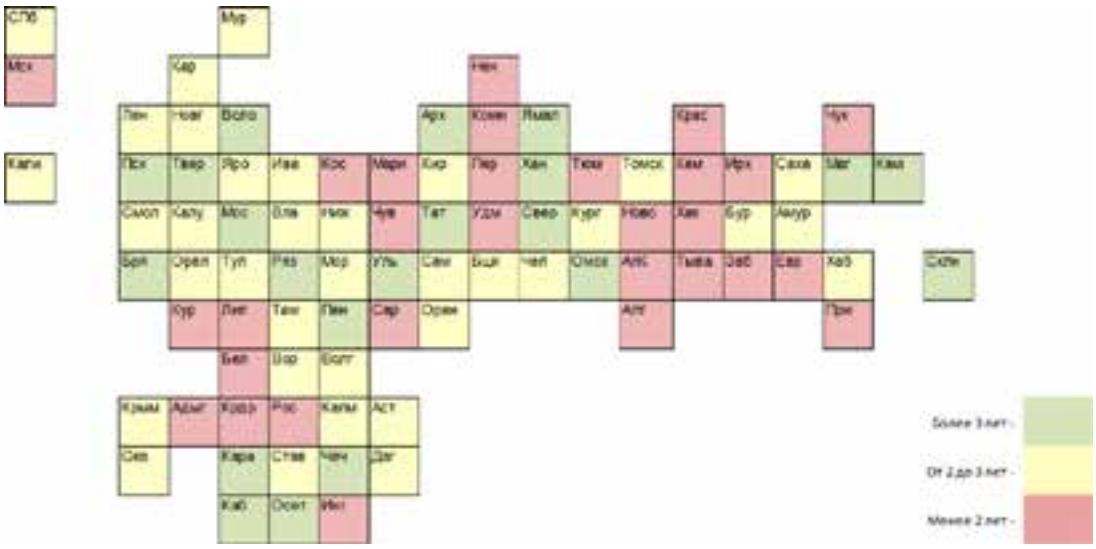


Рис. 3. Пространственное распределение роста показателя ОПЖ по модели согласно изменениям уровней смертности по причине БСК среди субъектов Российской Федерации за 2010–2019 гг., лет

Кроме того, по результатам корреляционно-регрессионного анализа установлена достоверная ($p<0,05$) корреляционная связь умеренной силы ($r=0,63$) между снижением повозрастных показателей смертности по причине БСК и значительным относительно других субъектов (свыше 3 лет, 22 субъекта РФ) приростом ОПЖ (рис. 4а). В субъектах с меньшим приростом ОПЖ данная связь не выражена (рис. 4б). Выявленные различия между группами субъектов РФ отчасти могут объясняться более поздним началом снижения и исходным высоким уровнем смертности по причине БСК на территориях со значимым (свыше 3 лет) приростом ОПЖ.

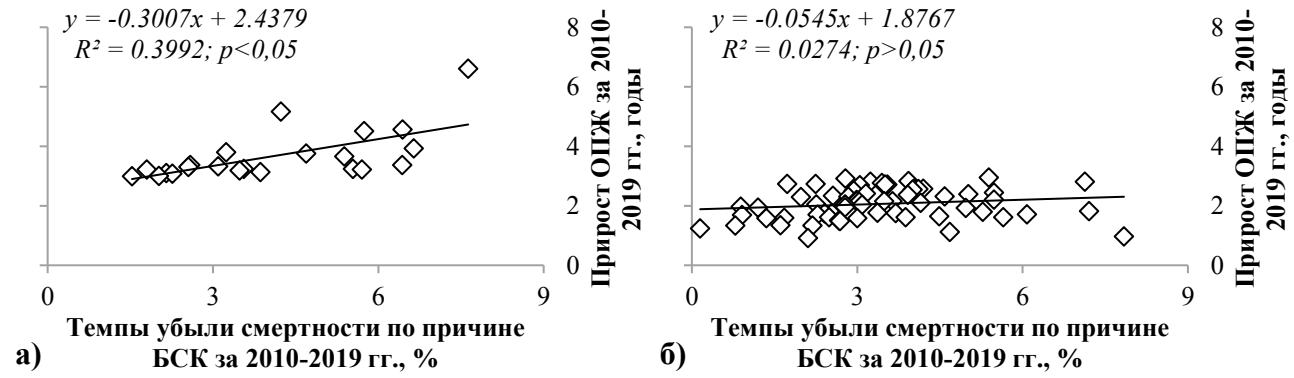


Рис. 4. Результаты корреляционно-регрессионного анализа между значениями средних темпов убыли (%) смертности по причине БСК и модельными значениями прироста ОПЖ: свыше 3 лет (а) и менее 3 лет (б)

По результатам анализа изменения показателя ОПЖ, ассоциированного с фактическим изменением показателей среды обитания и образа жизни, в рамках отдельных условных групп выявлена пространственная дифференциация (таблица).

Таблица. Диапазоны изменения показателя ОПЖ, ассоциированного с фактическим изменением показателей среды обитания и образа жизни в субъектах РФ за 2010–2019 гг.

Группа факторов среды обитания и образа жизни	Прирост показателя ОПЖ согласно модельным данным. Минимальное – максимальное значение (среднее значение, взвешенное по численности населения в субъектах РФ в 2019 г.)		Субъект РФ: минимальное / максимальное значение
	В годах	В днях	
Все показатели в совокупности	0,92 – 6,61 (2,43)	335 – 2 414 (888)	Новосибирская область / Чеченская Республика
Показатели санитарно-эпидемиологического благополучия	-0,66 – 1,29 (0,29)	-241 – 470 (106)	Новосибирская область / Республика Ингушетия
Показатели образа жизни	-1,42 – 1,23 (0,43)	-517 – 448 (155)	Республика Ингушетия / Омская область
Социально-демографические показатели	-0,36 – 1,63 (0,64)	-130 – 594 (232)	Республика Крым / Кабардино–Балкарская Республика
Экономические показатели	0,03 – 1,81 (0,41)	9 – 662 (148)	Республика Алтай / Республика Ингушетия
Показатели здравоохранения	-0,06 – 0,95 (0,15)	-23 – 346 (54)	Владимирская область / Республика Крым
Показатели первичной заболеваемости	-0,79 – 1,48 (0,21)	-289 – 540 (75)	Ненецкий автономный округ / г. Севастополь
Погодно-климатические показатели	-0,33 – 0,63 (-0,03)	-122 – 230 (-7)	г. Севастополь / Республика Ингушетия

В рамках выявленной региональной дифференциации получено, что в наибольшей степени за период 2010–2019 гг. снижение повозрастной смертности по причине БСК и соответствующий рост показателя ОПЖ были ассоциировано с изменением показателей социально-демографической сферы (0,64 года в среднем по регионам), вариативность показателя в субъектах РФ находилась в диапазоне от -0,36 (Республика Крым) до 1,63 (Кабардино-Балкарская Республика) года. Значимое влияние оказали факторы образа жизни, экономические факторы и факторы санитарно-эпидемиологического благополучия. Так, за анализируемый период наблюдаемые изменения факторов группы санитарно-эпидемиологического благополучия обусловили снижение ОПЖ в результате снижения коэффициентов смертности по причине БСК на территории 10 субъектов РФ (Новосибирская – (-)0,66 года, Липецкая области – 0,33 года, Республика Коми – 0,3 года и др.); в 75 субъектах отмечена позитивная тенденция: наибольший ассоциированный с исследуемыми факторами данной группы прирост показателя ОПЖ отмечен в Республике Ингушетия – 1,29 года, Республике Дагестан – 1,28 года, Ненецком автономном округе – 1,02 года).

Особенностью группы экономических показателей является рост ОПЖ, ассоциированный с фактическим изменением анализируемых показателей за 2010–2019 гг., во всех субъектах РФ в диапазоне от 0,03 (Республика Алтай) до 1,81 (Республика Ингушетия) года. Динамика изменения показателей образа жизни за прошедшее десятилетие обусловила увеличение ОПЖ в 81 субъекте РФ от 0,05 (Еврейская автономная область) до 1,23 года (Омская область).

Несмотря на меньшие значения эффектов влияния (в диапазоне -0,33 – 0,63 года; -0,03 года в среднем), регистрируемые изменения исследуемых погодно-климатических факторов, в т.ч. температуры, уровня осадков, наиболее выраженно отразили региональную дифференциацию регионов РФ по эффектам на смертность по причине БСК и на ОПЖ: рост ОПЖ отмечен в 48 субъектах, снижение – в 37 субъектах. При этом следует отметить, что данная группа факторов относится к неуправляемым деятельностью человека.

Согласно построенной системе моделей искусственных нейронных сетей показатели первичной заболеваемости по основным классам болезней являются модифицирующими факторами, напрямую или опосредованно изменяющими вероятность смерти по причине БСК. В то же время данные показатели также зависят от влияния других исследуемых факторов среды обитания и образа жизни, отражая сложность, эмерджентность и вариативность взаимосвязей в системе «среда обитания и образ жизни – здоровье населения». Реализация федеральных и региональных программ, направленных на профилактику, диагностику и лечение заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, в определённой степени обеспечила изменение уровней распространённости показателей первичной заболеваемости по основным классам болезней в разрезе основных возрастных групп (дети до 17 лет, взрослые от 18 до 64 лет, пожилые старше 65 лет) за период 2010–2019 гг., и, как следствие, – рост показателя ОПЖ в 69 субъектах РФ от 0,01 до 1,48 года. В то же время на территориях 16 субъектов изменение динамики показателей первичной заболеваемости было ассоциировано со снижением ОПЖ до -0,79 (табл.). Анализируемые показатели системы здравоохранения (кадровая обеспеченность, количество медицинских организаций и др.) обусловили в динамике менее выраженные эффекты на повозрастные показатели смертности по причине БСК (от -0,06 года во Владимирской области до 0,95 года в Республике Крым; в среднем 0,15 года) среди управляемых проектной деятельностью групп показателей, что может быть обусловлено определенной стабильностью показателей данной группы, региональными особенностями системы здравоохранения и др.

Выводы. По результатам проведённого исследования по анализу эпидемиологических особенностей, пространственной дифференциации и перечня приоритетных детерминирующих факторов смертности по причине БСК установлено:

– за период 2010–2019 гг. на территории РФ наблюдалось снижение уровня смертности по причине БСК на 29,37 % со среднегодовым темпом убыли – 3,77 %. Территориальные различия в интенсивности снижения данного показателя за данный период существенны и находились в диапазоне от 56,46 % в Тюменской области до 1,92 % в Еврейской автономной области со средними темпами убыли от 7,84 % до 0,15 % соответственно;

– на территориях с приростом ОПЖ свыше 3 лет за 2010-2019 гг. (22 субъекта РФ) отмечена достоверная связь умеренной силы данного показателя (прирост показателя ОПЖ) со

значениями темпов убыли показателей смертности по причине БСК (*r=0,63; p<0,05*), что может быть связано с более поздним началом снижения и/или изначально более высокими уровнями смертности по причине БСК на данных территориях;

– получены модельные оценки роста показателя ОПЖ, ассоциированные с изменением уровня повозрастной смертности населения по причине БСК в результате модифицирующего влияния факторов среды обитания и образа жизни за период 2010-2019 гг. (без учета ковид-обусловленных процессов), которые варьировали от 0,92 (Новосибирская область) до 6,61 (Чеченская Республика) года среди субъектов РФ;

– пространственная дифференциация наблюдаемых в 2010-2019 гг. (период до распространения COVID-19) уровней повозрастной смертности по причине БСК и показателя ОПЖ в субъектах РФ обусловлена различными уровнями и степенью влияния произошедших изменений гетерогенных факторов среды обитания и образа жизни. В частности, экономические показатели (эффекты на ОПЖ 0,03–1,81 года), показатели санитарно-эпидемиологического благополучия (-0,66–1,29 года), показатели образа жизни (-1,42–1,23 года) и в наибольшей степени показатели социально-демографической сферы (-0,36–1,63 года) могли оказывать значимое вариативное модифицирующее влияние на медико-демографическую ситуацию.

Полученные в исследовании результаты могут быть использованы для оценки эффективности (контроля, диагностики) реализованных мероприятий по улучшению медико-демографической ситуации на фоне доминирующего влияния болезней неинфекционной природы. Кроме того, данный методический подход может быть использован для сценарного прогнозирования и установления приоритетных групп факторов на конкретных территориях с последующей подготовкой предложений в части улучшения параметров общественного здоровья, тем самым содействуя реализации государственных программ, национальных, федеральных, региональных проектов развития страны.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ, 2023 [Электронный ресурс] – URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases (дата обращения: 15.01.2024).

2. Andrade C., Mahrouseh N., Unim B., et al. Inequalities in the burden of noncommunicable diseases across European countries: a systematic analysis of the 2019 global burden of disease study. // Population Medicine. – 2023. – 5(Supplement). – A1492. – DOI: 10.18332/popmed/164066.

3. Зайцева Н.В. Гигиена в решении актуальных проблем развития потенциала здоровья и продолжительности жизни населения Российской Федерации // Гигиена и санитария. – 2022. – Т. 101(10). – с. 1138–1144. – DOI: 10.47470/0016-9900-2022-101-10-1138-1144.

4. Попова А.Ю., Кузьмин С.В., Зайцева Н.В., Май И.В. Приоритеты научной поддержки деятельности санитарно-эпидемиологической службы в области гигиены: поиск ответов на

известные угрозы и новые вызовы // Анализ риска здоровью. – 2021. – № 1. – DOI: 10.21668/health.risk/2021.1.01.

5. Зайцева Н.В., Май И.В., Кирьянов Д.А. Заболеваемость населения, детерминированная факторами среды обитания, как дополнительная нагрузка на систему здравоохранения и ущербообразующий фактор экономике региона // Здравоохранение Российской Федерации. – 2023. – Т. 67(6). – с. 471–478. – DOI: 10.47470/0044-197X-2023-67-6-471-478. EDN: pvujqe.

6. ВОЗ, 2020 [Электронный ресурс] – URL: https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019 (дата обращения: 15.01.2024).

7. Yusuf S., Joseph P., Rangarajan S., et al. Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study // The Lancet. – 2020. – Vol. 395(10226). – pp. 795–808 – DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32008-2.

8. Puska P., Jaini P. The North Karelia Project: Prevention of Cardiovascular Disease in Finland Through Population-Based Lifestyle Interventions // American journal of lifestyle medicine. – 2020. – Vol. 14(5). – pp. 495–499 – DOI: 10.1177/1559827620910981.

9. Andersson C., Vasan R.S. Epidemiology of cardiovascular disease in young individuals // Nature reviews. Cardiology. – 2018. – Vol. 15(4). – pp. 230–240. – DOI: 10.1038/nrcardio.2017.154.

10. Anand S., Bradshaw C., Prabhakaran D. Prevention and management of CVD in LMICs: why do ethnicity, culture, and context matter? // BMC Med. – 2020. – Vol. 18(7) – DOI: 10.1186/s12916-019-1480-9.

11. Koon K.T., Rafiq T., Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective From Developing Countries // Canadian Journal of Cardiology. – 2021. – Vol. 37(5). – pp. 733–743 – DOI: 10.1016/j.cjca.2021.02.009.

12. Ejaz H., Alsrhani A., Zafar A.et al. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients // Journal of infection and public health. – 2020. – Vol. 13(12). – pp. 1833–1839. – DOI: 10.1016/j.jiph.2020.07.014.

13. Vosko I., Zirlik A., BuggerH. Impact of COVID-19 on Cardiovascular Disease // Viruses. – 2023. – Vol. 15(2). – P. 508 – DOI: 10.3390/v15020508.

14. Зайцева Н.В., Клейн С.В., Глухих М.В., Кирьянов Д.А., Камалтдинов М.Р. Прогноз потенциала роста ожидаемой продолжительности жизни населения Российской Федерации на основе сценарного изменения социально-гигиенических детерминант с использованием искусственной нейронной сети // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 2. – С. 4–16. – DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.01.

15. Глухих М.В., Клейн С.В., Кирьянов Д.А., Камалтдинов М.Р. Прогноз ожидаемой продолжительности жизни населения России на основе модели влияния комплекса социально-гигиенических детерминант на коэффициенты повозрастной смертности на примере болезней

системы кровообращения // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 3. – С. 98–109. – DOI: 10.21668/health.risk/2022.3.09.

16. Chan J.Y.-L., Leow S.M.H., Bea K.T., et al. Mitigating the Multicollinearity Problem and Its Machine Learning Approach: A Review // Mathematics. – 2022. – Vol. 10(8). – P. 1283. – DOI: 10.3390/math10081283.

17. Щур А.Е., Тимонин С.А. Центр-периферийные различия продолжительности жизни в России: региональный анализ // Демографическое обозрение. – 2020. – Т. 7, № 3. – С. 108–133. – DOI: 10.17323/demreview.v7i3.11638. – EDN CCZDJA.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДА COVID-19 У ЖИТЕЛЕЙ ДОМОВ ПРЕСТАРЕЛЫХ И СОЦИАЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Н.Г. Давидова [1,2], С.В. Углева [1]

[1]Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

[2] Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» в ВАО Москвы, Москва. Россия

Актуальность. *Известно, что SARS-CoV-2 приводит к более тяжелому течению инфекции у пожилых людей в домах престарелых.*

Цель исследования*. Построение прогностической модели вероятности летального исхода у жителей домов престарелых и социальных учреждений.*

Материалы и методы *проведен анализ 355 историй болезни жителей домов престарелых и социальных учреждений на территории г. Москвы, заболевших COVID-19 в период с 2020 по 2022 г.г. Построение прогностической модели риска определенного исхода выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии в программе StatTech v. 2.3.0.*

Результаты*. Факторами, использованными в качестве предикторов при прогнозировании риска летального исхода COVID-19 явились: возраст AOR = 1,045 (95%ДИ 1,016 – 1,076), количество сопутствующих заболеваний AOR = 1,096 (95%ДИ 0,953 – 1,260), гипертоническая болезнь AOR = 3,758 (95%ДИ 1,281 – 11,012), заболевания почек AOR = 3,808 (95%ДИ 1,861 – 7,791).*

Заключение. *Инструменты прогноза течения и исхода заболевания могут применяться для оперативной оценки возможных вариантов течения заболевания и в выделении больных группы высокого риска неблагоприятного исхода.*

Ключевые слова*: учреждения долговременного ухода, дома престарелых, пневмония, летальный исход, COVID-19, факторы риска.*

Актуальность. Факторы риска тяжелого течения COVID-19 на сегодняшний день достаточно хорошо изучены. Результаты многих исследований показали, что мужской пол, пожилой возраст, сахарный диабет, гипертония, хронические заболевания легких и сердечно-сосудистой системы, хроническая болезнь почек, ожирение являются факторами риска COVID-19 [1-5, 7, 8]. Кроме того, недержание кишечника, низкий функциональный статус, большое количество сопутствующих заболеваний, деменция и болезнь Паркинсона также входят в перечень факторов риска тяжелого течения данной инфекции [5–8]. Жители домов престарелых, геронтологических центров, домов ветеранов и социальных домов зависят от посторонней помощи, имеют в анамнезе множество сопутствующих заболеваний, в том числе

когнитивные и психические расстройства, и являются группой повышенного риска смертельного исхода COVID-19 по сравнению с другими группами населения.

Цель: оценить шансы летального исхода у заболевших COVID-19 жителей домов престарелых и социальных учреждений в зависимости возраста, пола, группы инвалидности (ГИ), сопутствующих заболеваний и их количества, функционального статуса и выполнить построение прогностической модели.

Материалы и методы

Проведен анализ 355 историй болезни и посмертных эпикризов жителей домов престарелых и социальных учреждений (геронтологических центров, домов ветеранов и социальных домов) на территории г. Москва, заболевших COVID-19 в период с 2020 по 2022 г.г. Факторы риска при COVID-19 были изучены нами в исследовании «случай–контроль» (таблица 1).

Таблица 1

Дизайн исследования «случай-контроль» для оценки шансов летального исхода.

	Жители с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2	
	68 участников в группе «случай»	287 участника в группе «контроль»
Критерии включения	- основной диагноз U07.1 - смерть от любых причин	- основной диагноз U07.1 - выздоровление
Критерии исключения	отсутствие сведений об исходе заболевания	отсутствие сведений об исходе заболевания

В качестве факторов риска летального исхода заболевания у жителей домов престарелых и социальных учреждений были рассмотрены следующие характеристики заболевших: возраст, пол, сопутствующие заболевания и их количество, возможность передвигаться без посторонней помощи, группа инвалидности, нарушение тазовых функций (недержание мочеиспускания и дефекации). В исследуемую выборку лица младше 18 лет не входили.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.6.5. Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии. При построении прогностической модели для определения вероятности исхода заболевания методом бинарной логистической регрессии нами принудительно включались факторы, представленные в таблице 2. Для включения в

прогностическую модель были отобраны предикторы, которые после учета влияния потенциальных искажающих факторов (конфаундеров) создавали наиболее эффективную модель с наивысшей прогностической силой, выражающейся в чувствительности и специфичности модели и площади под ROC-кривыми.

Результаты

Из 355 человек, соответствующих критериям включения, 168 (47%) - мужчины и 187 (53%) женщины. Медиана возраста мужчин составила 63 года IQR(48–71), медиана возраста женщин была более чем на 10 лет выше и составила 74 года IQR(63 – 83)). Различия в возрасте были статистически значимы ($p < 0,001$). Медиана количества сопутствующих заболеваний мужчин была достоверно ниже, чем у женщин: Me мужчин составила 4 заболевания IQR (2-6), а Me женщин - 5 заболеваний IQR (4 – 7), различия были статистически значимы ($p < 0,001$). У мужчин в нашем исследовании вторая группа инвалидности была в 1,865 чаще, чем у женщин ($p = 0,007$). Мужчины чаще женщин могли самостоятельно ходить в 3,792 раза ($p< 0,001$). В структуре сопутствующей патологии всей выборки пациентов преобладали деменция или умственная отсталость (84,2%), цереброваскулярная болезнь (ЦВБ) (69,8%), гипертоническая болезнь (ГБ) (59,1%) и ишемическая болезнь сердца (ИБС) (54%). Среднее число сопутствующих заболеваний составило 5, от 1 до 4 заболевания у 41,9% заболевших, от 5 до 9 у 51,2% заболевших, от 10 до 16 у 6,7% заболевших. Сведения о группе инвалидности имеется на 310 человек, из них у 51% была I группа инвалидности, II группа инвалидности у 48%, III группа у 1% человек. Сведения о нарушении тазовых функций имеются на 137 человек, из них у 57% имеется недержание. Сведения о возможности самостоятельно передвигаться имеются на 317 человек, из них не могут ходить без посторонней помощи 35%. В общей группе заболевших доля лиц с летальным исходом заболевания составила 19%.

Таблица 2

Распространенность и оценка потенциальных факторов риска летального исхода при заболевании COVID-19 у жителей домов престарелых и социальных учреждений, %

Потенциальные факторы риска	Группа «случай», % (n = 68)	Группа «контроль», % (n = 287)	ОШ нескорректированный (95% ДИ)	p
Мужской пол	33,8	49,3	0,526 95% ДИ (0,302 – 0,914)	0,021*
Возраст (по отношению к возрастной категории 18-50 лет)				

51-96 лет	94,1	76,6	4,895 95% ДИ (1,719 – 13,940)	0,001*
Функциональный статус				
Мобильность (возможность самостоятельно ходить)	50,9	68,2	0,484 95% ДИ (0,268 – 0,872)	0,014*
Нарушены функции тазовых органов (имеется недержание)	85,7	54,1	5,091 95% ДИ (1,093 – 23,717)	0,025*
II Группа инвалидности (по отношению к I группе)	52,7	48,6	1,178 95% ДИ (0,657 – 2,112)	0,581
Сопутствующие заболевания				
Сахарный диабет	23,5	12,2	2,207 95% ДИ (1,138 – 4,280)	0,017*
ИБС	77,9	48,3	3,789 95% ДИ (2,042 – 7,033)	< 0,001*
Нарушение сердечного ритма	33,8	12,2	3,665 95% ДИ (1,983 – 6,775)	< 0,001*
ГБ	92,6	51,4	11,914 95% ДИ(4,655 – 30,491	< 0,001*
Деменция и умственная отсталость	92,6	82,2	2,734 95% ДИ (1,047 – 7,139)	0,033*
ЦВБ	94,1	64,2	8,918	< 0,001*

			95% ДИ (3,156 – 25,200)	
Заболевания почек	54,4	16,1	6,227 95% ДИ (3,514 – 11,034)	< 0,001*
Количество сопутствующих заболеваний от 4 до 16 (по отношению к 1-3)	97,1	64,3	18,293 95% ДИ (4,389 – 76,244)	< 0,001*

* – влияние предиктора статистически значимо (p < 0,05)

В нашем исследовании мужской пол оказался протективным фактором, снижающим шанс летального исхода в 1,9 раза. Средний возраст мужчин с летальным исходом составил 70,39 лет и был достоверно ниже, чем средний возраст умерших женщин, который составил 81,04 лет (p < 0,05).

При анализе данных было установлено, что сопутствующие заболевания, старший и пожилой возраст, низкий функциональный статус (недержание кала и мочи), были ассоциированы с риском летального исхода у заболевших COVID-19 жителей домов престарелых и социальных учреждений. Также установлено, что наличие у пациентов большого количества сопутствующих заболеваний (4 и более) ассоциировано с летальным исходом.

В результате проведенной бинарной логистической регрессии с принудительным включением предикторов и с учетом влияния потенциальных искажающих факторов (конфаундеров) было установлено, что шанс смерти при заболевании COVID-19 у жителей с увеличением возраста на 1 год (по сравнению с возрастом 18 лет)- увеличивается в **1,045 раза**, с увеличением количества сопутствующих заболеваний на 1 - увеличивается в **1,096 раз**, среди жителей, с заболеваниями почек шанс умереть выше в **3,808 раза**, и выше в **3,758 раза** у жителей с гипертонической болезнью (табл. 3, рис. 1).

Таблица 3

Результаты бинарной логистической регрессии: шансы летального исхода при заболевании COVID-19 жителей домов престарелых и социальных учреждений в соответствии с выбранными потенциальными факторами риска

Предикторы	Отношение шансов, OR (нескорректированный показатель)		Отношение шансов, OR (скорректированный показатель)	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
Возраст	1,073; 1,048 – 1,100	< 0,001*	**1,045**; 1,016 – 1,076	0,002*
Количество сопутствующих заболеваний	1,395; 1,254 – 1,553	< 0,001*	**1,096**; 0,953 – 1,260	0,198
ГБ	11,914; 4,655 – 30,478	< 0,001*	**3,758**; 1,281 – 11,012	0,016*
Заболевания почек	6,227; 3,515 – 11,034	< 0,001*	**3,808**; 1,861 – 7,791	< 0,001*

* – влияние предиктора статистически значимо (p < 0,05)

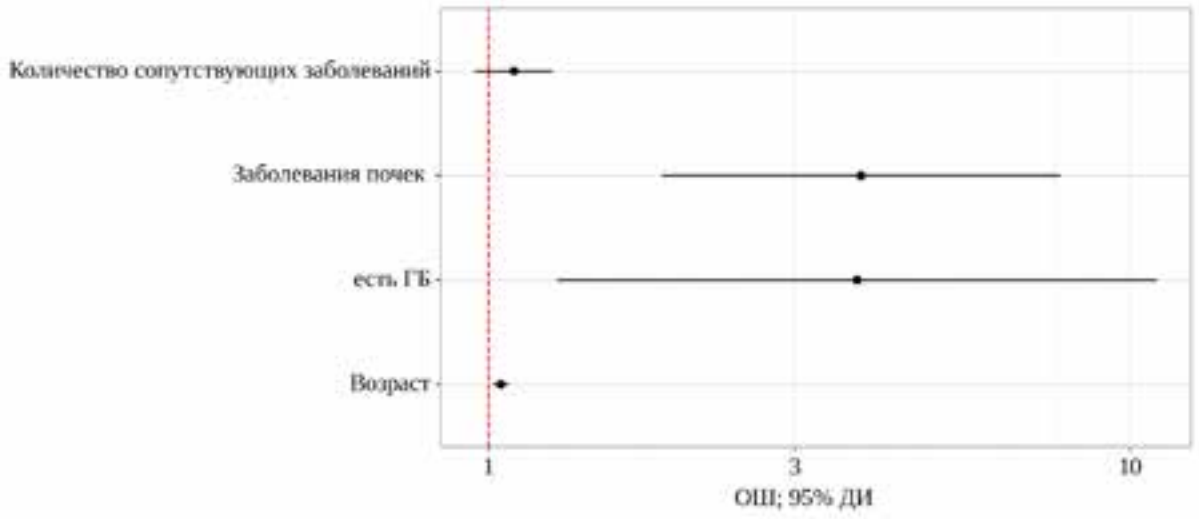


Рис. 1. Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов летального исхода

Нами была разработана прогностическая модель для определения вероятности умереть у заболевших COVID-19 жителей домов престарелых и социальных учреждений в зависимости от возраста, количества сопутствующих заболеваний, ГБ, заболеваний почек

методом бинарной логистической регрессии. Число наблюдений составило 354. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%$

$z = -6{,}637 + 0{,}044X_{В} + 0{,}091X_{КСЗ} + 1{,}324X_{ГБ} + 1{,}337X_{ЗП}$

где P – вероятность летального исхода,

$X_{В}$ – возраст,

$X_{КСЗ}$ – количество сопутствующих заболеваний,

$X_{ГБ}$ – есть гипертоническая болезнь (0 – нет, 1 – есть),

$X_{ЗП}$ – есть заболевания почек (0 – нет, 1 – есть).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p < 0{,}001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 35,2% наблюдаемой дисперсии летального исхода.

При оценке зависимости вероятности есть летальность от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая, рис.2.

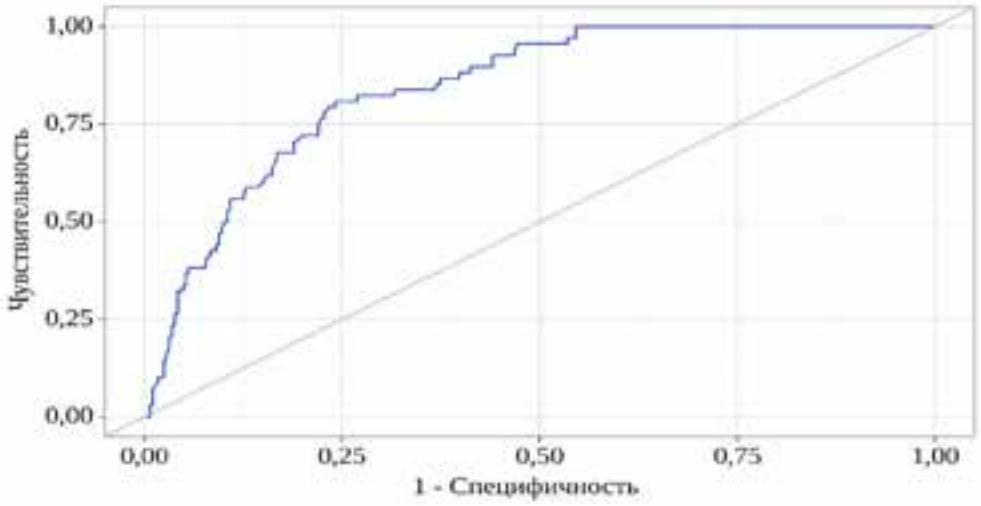


Рис. 2. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности летального исхода от значения логистической функции P

Площадь под ROC-кривой составила 0,843 ± 0,031 с 95% ДИ: 0,812–0,874. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0{,}001$). Чувствительность и специфичность модели составили 80,9% и 75,9%, соответственно.

Заключение

Наше исследование факторов риска тяжелого течения COVID-19 дополняет результаты других авторов: различные сопутствующие заболевания и их большое количество, нарушение функций тазовых органов (недержание) было ассоциировано с летальным исходом у жителей домов престарелых и социальных учреждений, тогда как II группа инвалидности (по отношению к I группе), способность самостоятельно ходить и мужской пол, наоборот, были факторами, снижающими шанс летального исхода у заболевших COVID-19 жителей. Протективное свойство мужского пола является особенностью изучаемых учреждений: мужчины попадают в пансионаты, в том числе психоневрологической направленности, в более молодом возрасте, чем женщины, и с более высоким функциональным статусом.

По полученной прогностической модели, содержащей сведения о возрасте, поле, количестве сопутствующих заболеваний, наличии или отсутствии ГБ и заболеваний почек предсказать вероятность летального исхода у жителя дома престарелых. Полученную прогностическую модель для определения вероятности летального исхода можно оценить как хорошего качества, если проводить их оценку по чувствительности и специфичности, площади под ROC-кривой[1] и коэффициенту детерминации Найджелкерка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биличенко Т. Н. Факторы риска, иммунологические механизмы и биологические маркеры тяжелого течения COVID-19 (обзор исследований) //Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2021. – Т. 5. – №. 5. – С. 237-244.
2. Кебина А. Л. и др. Клинико-анатомический портрет больных с тяжелым течением инфекции COVID-19 //Лечащий врач. – 2020. – №. 10. – С. 15-19.
3. Нартова А. А. и др. Сахарный диабет-просто сопутствующее заболевание или фактор риска тяжелого течения COVID-19? //Молодежный инновационный вестник. – 2022. – Т. 11. – №. S1. – С. 132-137.
4. Li K. et al. Predictors of fatality including radiographic findings in adults with COVID-19 //Respiratory research. – 2020. – Т. 21. – №. 1. – С. 1-10.
5. Suñer C. et al. A retrospective cohort study of risk factors for mortality among nursing homes exposed to COVID-19 in Spain //Nature Aging. – 2021. – Т. 1. – №. 7. – С. 579-584.

[1] https://loginom.ru/blog/logistic-regression-roc-auc?ysclid=letyaz3q1d493539213

6. Shi S. M. et al. Risk factors, presentation, and course of coronavirus disease 2019 in a large, academic long-term care facility //Journal of the American Medical Directors Association. – 2020. – Т. 21. – №. 10. – С. 1378-1383. e1.
7. Vignatelli L. et al. Risk of hospitalization and death for COVID-19 in people with Parkinson's disease or parkinsonism //Movement Disorders. – 2021. – Т. 36. – №. 1. – С. 1-10.
8. Zheng Z. et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis //Journal of infection. – 2020. – Т. 81. – №. 2. – С. e16-e25.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА БИОГЕЛЬМИНТОЗАМИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ: ВОПРОСЫ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ

А.Г. Драгомерецкая, О.Е. Троценко, Ю.И. Москвина, С.И. Гаер

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск

Одной из задач эпидемиологического надзора за паразитарными заболеваниями является поддержание санитарно-эпидемиологического благополучия по эндемичным биогельминтозам на территориях, входящих в ареал возбудителей. Включение человека в циркуляцию возбудителей зависит от комплекса социальных факторов, прежде всего, от особенностей питания жителей. Многолетние исследования показывают, что данные официальной регистрации не в полной мере отражают реальную картину поражённости населения возбудителями биогельминтозов. Основной задачей на современном этапе является обеспечение дифференцированного подхода к разработке и оптимизации средств и методов профилактики заболеваний среди населения эндемичных территорий в зависимости от типа очага, уровня эндемии и степени риска заражения населения.

Ключевые слова: биогельминтозы, эпидемиологический надзор, промежуточные хозяева, рыбохозяйственные водоёмы

Совершенствование системы надзора и профилактики, изучение закономерностей возникновения и распространения среди населения паразитарных болезней являются актуальными проблемами здравоохранения Российской Федерации. Несмотря на достигнутые достижения, эпидемиологический надзор за паразитарными заболеваниями на современном этапе требует совершенствования в части разработки и внедрения дополнительных методических подходов для анализа паразитарной заболеваемости населения, а также определяющих её факторов. Интенсивность эпидемического процесса и степень риска заражения населения на различных территориях обусловлены региональной спецификой очагов инвазий.

Биогельминтозы — это паразитарные заболевания, при которых биологический цикл возбудителя проходит в организме промежуточных хозяев (моллюски, рыбы, ракообразные, членистоногие, млекопитающие) и дефинитивных хозяев (млекопитающие и человек). Возбудители в процессе развития передаются по пищевым цепям от одного хозяина к другому [1]. Существует большое число биогельминтозов, при которых источником инвазии для дефинитивных хозяев, в том числе человека, являются различные виды рыб (вторые промежуточные или дополнительные хозяева трематод, дифиллоботриид), что особенно актуально для Дальневосточного федерального округа (ДФО).

Современная ситуация в мире обуславливает актуальность знаний об имеющихся внутренних резервах, позволяющих снизить зависимость от внешних факторов для обеспечения продовольственной безопасности государства. Амур — важнейшая в рыбохозяйственном отношении река Дальнего Востока. Регион является важным рыбопромысловым районом Российской Федерации, где рыбодобывающая промышленность занимает одно из лидирующих мест в экономике. Здесь сосредоточены крупные рыбопромышленные предприятия, осуществляется лов рыбы рыбаками-любителями, а для коренных малочисленных народов рыболовство является элементом традиционного образа жизни. Отмечается и незаконный вылов биологических ресурсов, так называемый ННН-промысел (незаконный, несообщаемый, нерегулируемый), следствием которого является образование стихийных рынков, где происходит реализация рыбы населению без проведения санитарно-паразитологической экспертизы и обеззараживания.

Дальневосточный регион характеризуется особенностями видового состава возбудителей паразитарных болезней, многие из которых не регистрируются на территории других федеральных округов Российской Федерации (РФ). На территории Хабаровского края, Приморского края, Амурской и Еврейской автономной областей (ЕАО) локализуются природные очаги клонорхоза, нанофиетоза, метагонимоза – эндемичных для Приамурья трематодозов человека и животных [1-5, 7]. Шесть субъектов региона (Чукотский автономный округ, Камчатский край, Сахалинская область, Приморский край, Хабаровский край, Магаданская область) расположены вдоль северо-западного побережья Тихого океана и его морей, где локализуются природные очаги дифиллоботриоза, вызываемого возбудителем *Dibothriocephalus nihonkaiensis*. Фактором передачи возбудителя человеку являются тихоокеанские лососи - основной объект промысла Дальневосточного рыбохозяйственного бассейна [6]. Эти же виды, а также большое число морских видов рыб (сельдь, навага, минтай и другие), головоногие моллюски и ракообразные могут являться источником инвазии возбудителями анизакидоза – нематодами семейства *Anisakidae*. Включение человека в циркуляцию возбудителей зависит от комплекса социальных факторов, прежде всего, от особенностей питания жителей, в том числе присутствия в рационе сырой, недостаточно термически обработанной, слабосолёной рыбы и морепродуктов. Влияние также оказывают специфика профессиональной деятельности населения и санитарное состояние жилой зоны.

Закономерности пространственного распределения очагов клонорхоза, нанофиетоза, метагонимоза определяются разнообразием фаунистических комплексов и своеобразием бассейна реки Амур. Учитывая эпизоотический характер (с участием диких и домашних животных) циркуляции возбудителей на большей части ареала, основное внимание должно быть уделено снижению риска заражения населения. Для этого необходимы оценка

паразитологического состояния рыбохозяйственных водоёмов, санитарно-паразитологическая экспертиза сырья и рыбной продукции, гигиеническое воспитание населения.

Рыба и различные блюда из неё составляют значительную часть рациона жителей Приамурья. Только в Хабаровском крае функционирует более 20 рыбодобывающих предприятий, 52 общины коренных малочисленных народов Севера (КМНС) добывают рыбу для ведения традиционного образа жизни, ведётся любительский лов и так называемый ННН-промысел (несообщаемый, нерегулируемый, неконтролируемый). Употребление сырой рыбы свойственно всем коренным народностям Приамурья. Рыба является основным элементом рациона ввиду её доступности. Почти всё трудоспособное мужское население посёлков, расположенных на берегу р. Амур и его притоков, занято рыбной ловлей, у большинства семей имеется лодка и рыболовные снасти. И если на предприятиях производится санитарно-паразитологическая экспертиза сырья и обеззараживание, то объём добытой рыбы во всех остальных случаях употребляется населением без проведения этих мероприятий. И существенным способом воздействия здесь является гигиеническое воспитание населения [3, 6].

Многолетние исследования, проведённые в Приамурье сотрудниками лаборатории паразитологии ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора показывают, что данные официальной регистрации не в полной мере отражают реальную картину поражённости населения возбудителями биогельминтозов. Так, за период с 2009 по 2022 гг. в результате исследования биологического материала от населения Хабаровского края было выявлено 93 случая нанофиетоза, в то же время за этот период официально было зарегистрировано только четыре случая [4, 6].

Таким образом, жители удалённых от краевого центра и крупных городов населённых пунктов, расположенных в бассейне Амура и его притоков, являются в отношении трематодозов эпидемиологически значимыми контингентами. В то же время они не охвачены обследованием ввиду низкой транспортной доступности их места проживания, отсутствия регулярного транспортного сообщения и других причин.

Городское население, которое имеет доступ к медицинскому обслуживанию, также зачастую остаётся необследованным. При низкой интенсивности инвазии гельминтозы часто протекают бессимптомно, поэтому заболевшие в течение длительного периода не обращаются за медицинской помощью. Ввиду низкой настороженности врачей, при обращении пациента с диарейным синдромом и другими симптомами, свидетельствующими о дисфункции желудочно-кишечного тракта, исследование фекалий на наличие яиц гельминтов далеко не всегда оказывается в перечне назначенных обследований, уступая место исследованиям на дисбактериоз, энтеро-, ротавирусную инфекцию и другие. Вышеперечисленные обстоятельства могут приводить к гиподиагностике трематодозов.

Опыт проведения обследования населения показывает, что даже при получении результата исследования, заболевшие не всегда обращаются в медицинские организации (МО) ввиду отдалённости места проживания и других причин. Человек не обращается в МО, врач не ставит ему диагноз, не подаёт экстренное извещение в Роспотребнадзор, соответственно, регистрация случая не производится.

Но даже когда случай зарегистрирован, возникает ещё одна проблема. В таблице 1 указано абсолютное число случаев клонорхоза в субъектах Дальневосточного федерального округа (ДФО) с 2010 по 2022 гг. По абсолютному числу случаев за этот период лидирует Амурская область.

Таблица 1. Абсолютное число случаев клонорхоза в субъектах ДФО в 2010-2022 гг.

Наименование субъекта	**Абсолютное число случаев клонорхоза**												
	2010 год	2011 год	2012 год	2013 год	2014 год	2015 год	2016 год	2017 год	2018 год	2019 год	2020 год	2021 год	2022 год
Амурская область	176	170	112	115	76	80	87	80	82	47	27	17	11
Хабаровский край	10	8	15	9	9	7	2	2	0	3	2	2	1
ЕАО	25	22	24	22	14	18	14	22	18	17	11	14	13
Приморский край	35	24	28	22	10	17	16	19	11	7	6	4	6

Однако, учёт заболеваемости ведется по показателю числа случаев на 100 тыс. населения. И в результате пересчёта на 100 тыс. населения при небольшой разнице в абсолютном числе случаев показатели на 100 тыс. населения в ЕАО с численностью населения 154 тыс. человек значительно выше таковых в Приморском крае (рис. 1). Таким образом, чем больше численность населения субъекта, тем меньше итоговый показатель заболеваемости на 100 тыс. населения.

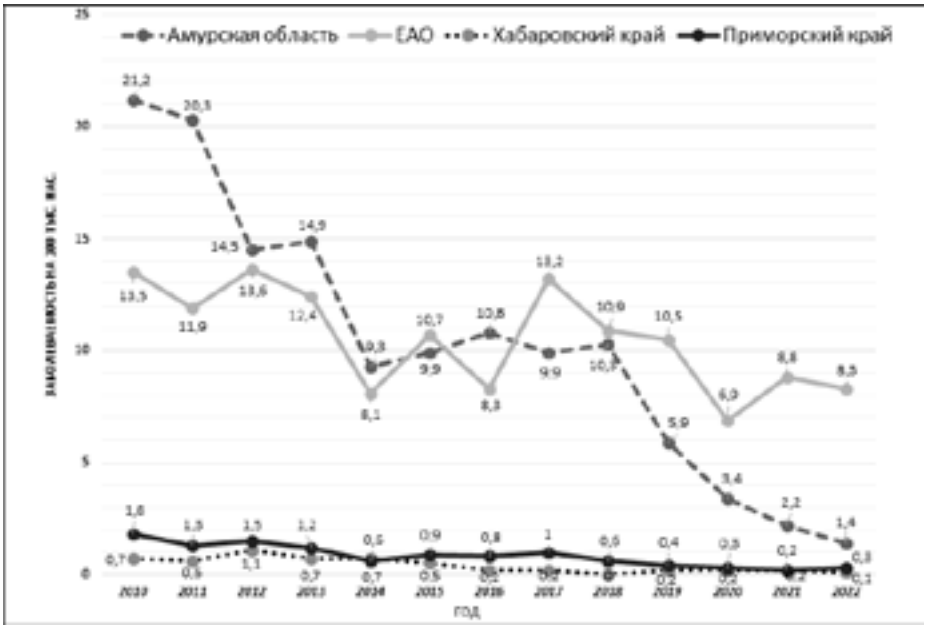


Рис. 1. Показатели заболеваемости клонорхозом населения субъектов ДФО в 2010-2022 гг.

Численность населения Приморского края, по данным Росстата на 1 января 2024 года, составляла 1 807 511 человек. При этом большая часть населения проживает в столице региона – г. Владивостоке (597 тыс. чел.), крупных городах (г. Уссурийск (172 тыс. чел.), г. Находка (142 тыс. чел.), г. Артём (104 тыс. чел.) и других. Таким образом, около 1,4 млн. человек – это жители крупных городов. В то же время очаги клонорхоза в пределах нативного ареала первых промежуточных хозяев *C.sinensis* – моллюсков рода *Parafossarulus* были обнаружены в Дальнереченском, Яковлевском, Кировском, Красноармейском, Пожарском административных районах и Лесозаводском городском округе с плотностью населения 1,0-7,8 чел./км^2 [4, 5].

В связи с вышеизложенным, напрашивается вывод о том, что в отношении природно-очаговых инвазий метод учёта числа случаев на 100 тыс. населения работает не так хорошо, как с вирусными и бактериальными нозологиями, при которых риск инфицирования возрастает с увеличением числа контактов между людьми. Поэтому для природно-очаговых инвазий наиболее важным показателем является число людей, проживающих в зоне риска заражения, имеющих доступ на территорию природного очага инвазии, а не совокупная численность населения субъекта.

И решением проблемы может стать дифференциация административных территорий субъектов по риску заражения населения биогельминтозами на основе результатов исследования биологического материала от людей и промежуточных хозяев трематод.

При сложившейся ситуации особую актуальность приобретают мероприятия по оценке паразитологического состояния рыбохозяйственных водоёмов для снижения риска заражения населения. Неотъемлемым элементом мониторинга является оценка инвазированности промысловых видов рыб, служащих источником инвазии для населения. И здесь нам не обойтись без межведомственного взаимодействия. Согласно действующей нормативно-правовой базе, отлов рыбы возможно проводить только с привлечением организации, наделённой в установленном законодательством порядке квотами на отлов водных биоресурсов в научно-исследовательских целях. Также организация должна иметь утвержденную Программу, внесённую в План ресурсных исследований и государственного мониторинга водных биоресурсов и среды их обитания. На территории Амурской области, ЕАО и Хабаровского края таким учреждением является подведомственный Федеральному агентству по рыболовству (Росрыболовству) Хабаровский филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГБНУ «ВНИРО»). В период с 2010 по 2022 гг. на территории трёх субъектов ДФО сотрудниками двух институтов Роспотребнадзора – ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора при участии коллег из Хабаровского филиала ФГБНУ «ВНИРО» были проведены масштабные исследования в рамках мониторинга

паразитологического состояния рыбохозяйственных водоёмов Хабаровского края, ЕАО и Амурской области. Были обследованы р. Амур и её притоки, крупные озёра и водохранилища. Было исследовано более 4500 особей рыб 54 видов. Данные эпизоотологического обследования водоёмов подтвердили циркуляцию возбудителей клонорхоза, нанофиетоза и метагонимоза в звене первых и вторых промежуточных хозяев и функционирование на указанных территориях природных очагов трематодозов. Показано наличие биотопов первых промежуточных хозяев трематод и высокий уровень инвазированности отдельных видов рыб в рыбохозяйственных водоёмах [6].

Актуальным вопросом является внедрение в практику паразитологических исследований молекулярно-генетических методов. Зачастую видовая идентификация биогельминтов на разных стадиях их развития, основывающая только на морфометрических данных, может приводить к ошибкам. Определение вида трематоды в результате исследования метацеркарий, обнаруженных в рыбе, всегда сложно и требует высокой квалификации исследователя. И метацеркарии, и мариты трематод рода *Metagonimus* не имеют значительных отличий в морфологии. Так, П. Г. Шуменко и соавт. (2017) сообщали о том, что трематода, ранее идентифицированная как *M.yokogawai* Katsurada, 1912, была определена ими как представитель нового вида *Metagonimus suifunensis* sp. n. Жизненный цикл этой трематоды был изучен экспериментально, были получены морфометрические данные для церкарий, метацеркарий и марит. Показано, что *M.suifunensis* sp. n. не имеет существенных морфометрических различий с *M. yokogawai, M. takahashii* и *M. miyatai*. Молекулярно-генетические исследования области ITS1-5, 8S-ITS2 и ядерной рибосомальной ДНК гена 28S подтвердили валидность нового вида *M.suifunensis* sp. n. Анализ филогенетического родства представителей рода *Metagonimus* показал, что *M.suifunensis* sp. n. является хорошо дифференцированным видом с низкой изменчивостью [8].

Во многих водоёмах у рыб обнаруживается совместное паразитирование *C.sinensis* и *Metorchis* sp. (паразита водоплавающих птиц) и на стадии метацеркарии провести видовую дифференциацию этих паразитов крайне сложно. Использование метода биопробы возможно только при наличии вивария в учреждении. В данном случае использование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) могло бы быть прекрасной альтернативой. В то же время широкое его внедрение как метода рутинных исследований в лабораторной работе паразитологов требует решения ряда вопросов от оснащения лабораторий до отработки и стандартизации протокола исследования.

Заключение

Принципы планирования и выполнения мероприятий в рамках эпидемиологического надзора за эндемичными биогельминтозами должны обеспечивать системный подход к изучению природных и социальных факторов, влияющих на формирование и функционирование очагов заболеваний. Необходимым условием для достижения поставленных задач является расширение межведомственного взаимодействия с организациями, подведомственными Федеральному агентству по рыболовству, при проведении мероприятий по оценке паразитологического состояния рыбохозяйственных водоёмов и координация действий с органами исполнительной власти.

Необходимо дальнейшее внедрение молекулярно-генетических методов в практику лабораторной работы паразитологов при проведении видовой идентификации возбудителей в промежуточных хозяевах, в биологическом материале от заболевших. Актуальным в настоящее время является вопрос подбора оптимальных алгоритмов молекулярно-генетического исследования для разных видов возбудителей биогельминтозов и их стандартизация.

Литература

1. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы) [Текст] / Под ред. В.П. Сергиева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб: Фолиант, 2016. – 640 с.

2. Драгомерецкая, А.Г. Основные результаты исследовательских работ отдела ПОИ ФБУН ХНИИЭМ Роспотребнадзора по изучению актуальных для Дальнего Востока России природно-очаговых инфекций и инвазий в современный период [Текст] / А.Г. Драгомерецкая, О.Е. Троценко, Т.В. Мжельская и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2023. - № 44. – С. 68-75 .

3. Драгомерецкая, А.Г. Традиционный образ жизни коренного населения Хабаровского края как фактор, обуславливающий широту распространения возбудителей эндемичных гельминтозов [Текст] / А.Г. Драгомерецкая, Л.А. Бебенина, О.Е. Троценко, С.И. Гаер // Здоровье населения и среда обитания. – 2022. –Т. 30. - №3. – С. 73-78.

4. Посохов, П.С. Клонорхоз в Приамурье [Текст] / П.С. Посохов // Библиотека инфекционной патологии. – Хабаровск: ДВГМУ, 2004. – Вып. 11. – С. 13-31.

5. Драгомерецкая, А.Г. Трематодозы Приамурья: рыба как фактор передачи гельминтов человеку [Текст] / А.Г. Драгомерецкая, О.П. Зеля, И.Б. Иванова // Библиотека инфекционной патологии. – Вып. 32. – Хабаровск, 2012. – 47 с.

6. Москвина, Ю.И. Дифиллоботриоз на Дальнем востоке России и в сопредельных странах Азиатско-Тихоокеанского региона: возбудители и вопросы эпидемиологии заболевания (обзор

литературы) [Текст] / Ю.И. Москвина, А.Г. Драгомерецкая, С.И. Гаер, О.Е. Троценко // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2022. – №43. – С. 113-122.

7. Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области [Текст] / отв. ред. Н.И. Дакус. – Хабаровск: Центр гос. санитарно-эпидемиологического надзора в Хабаровском крае, 2005. – 113 с.

8. Shumenko, P.G. *Metagonimus suifunensis* sp. n. (Trematoda: Heterophyidae) from the Russian Southern Far East: Morphology, life cycle, and molecular data [Текст] / P.G. Shumenko, Y.V. Tatonova, V.V. Besprozvannykh // Parasitology International. – 2017. – Vol. 66(1) – P. 982-991.

ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫЕ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ТРЕМАТОДЫ ЮГА РОССИЙСКОГО ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

К.А. Калинина, Ю.В. Татонова, А.В. Израильская, М.Ю. Щелканов

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, ул. Сельская 1, Владивосток, 690022, Россия

Трематоды (Trematoda) или сосальщики – паразиты класса плоских червей, развитие которых происходит с участием одного или нескольких промежуточных хозяев. Среди этих червей имеется большое число как эпидемиологически значимых видов, так и паразитов, на данный момент времени не представляющих угрозу для человека. Например, на юге российского Дальнего Востока, на 2019 год зарегистрировано свыше 2500 видов различных трематод, из которых более 40 видов является патогенными для человека, что гораздо больше, чем в других регионах Российской Федерации [1]. Среди особо опасных возбудителей гельминтозов в дальневосточном регионе России выделяют трематод семейств Opisthorchiidae Looss, 1899 (*Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875) Looss, 1907), Heterophyidae Leiper, 1909 (*Metagonimus suifunensis* Shumenko, Tatonova & Besprozvannykh, 2017) Troglotrematidae Odhner, 1914 (*Nanophyetus schikhobalowi* Skrjabi, Podjapolskaja, 1931), Paragonimidae Dollfus, 1939 (*Paragonimus westermani ishunensis* Chung, Hsu & Kao, 1978) и другие.

Помимо перечисленных трематод, потенциально опасными паразитами на юге российского Дальнего Востока являются два вида *Echinostoma cinetorchis* и *Neodiplostomum cf. seoulense* из семейств Echinostomatidae Looss, 1899 и Diplostomidae Poirier, 1886 соответственно, которые ранее были получены и описаны из естественно инфицированных крыс на территории Японии и Южной Кореи. Впоследствии *Echinostoma cinetorchis* неоднократно регистрировались в восточноазиатском регионе у полевых и домашних крыс, собак, кур и уток [2, 3, 4, 5]. Заражение человека было случайно выявлено во время вскрытия в Индонезии [6]. Родовая принадлежность второго паразита – *Neodiplostomum cf. seoulense*, была определена Хонгом и Шупом в 1995 году на основании морфологических данных [7]. Впоследствии инвазия *Neodiplostomum cf. seoulense* была диагностирована у молодого пациента мужского пола из Нидерландов, страдающего острым абдоминальным дискомфортом после употребления недоваренных змей. Позже было зарегистрировано еще 26 случаев заболевания человека [6]. В настоящее время, оба вида – *Echinostoma cinetorchis* и *Neodiplostomum cf. seoulense* обнаружены и на территории юга российского Дальнего Востока, где могут потенциально заражать человека [8, 9].

Но не стоит исключать и другие виды трематод, которые в настоящий момент не являются эпидемиологически значимыми для человека [10], так как под действием факторов среды и внутригеномных мутаций они могут оказаться в перечне вызывающих болезни населения. Например, большинство видов трематод рода *Metorchis* Looss, 1899 из семейства Opisthorchiidae паразитируют в желчных протоках птиц и млекопитающих, но некоторые представители таксона были обнаружены и у человека в Евразии, Северной Америке и Восточной Азии соответственно [11]. Поэтому можно ожидать, что и другие виды этого рода являются потенциально опасными для человека, поскольку большинство из них являются паразитами теплокровных позвоночных. Представители родственного семейства Heterophyidae – виды рода *Metagonimus* Katsurada, 1912 также имеют эпидемиологическое значение в Восточной Азии, где неоднократно регистрировалось заражение человека. Помимо этого, представители рода *Metagonimus* встречаются в Японии, Тайване и Корее [12]. Несмотря на то, что только пять видов данного рода зарегистрированы как паразиты человека (*M. yokogawai* Katsurada, 1912, *M. takahashii* Suzuki, 1930, *M. minutus* Katzuta, 1932, *M. miyatai* Saito, Chai, Kim, Lee & Rim и *M. katsuradai* Izumi, 1935) и включены в список наиболее важных пищевых паразитов в мире [13], другие представители рода также могут иметь эпидемиологическое значение. На настоящий момент, только два вида рода выявлены на территории юга российского Дальнего Востока – *M. suifunensis* и *M. pusillus* Tatonova, Shumenko & Besprozvannykh, 2018 [12, 14], но поскольку Япония, на островах которой циркулирует большинство других видов, находится в непосредственной близости от российского региона, не исключен миграционный поток эпидемиологически важных для человека паразитов.

Это касается и трематод из семейств Echinochasmidae Odhner, 1910 и Psilostomatidae Odhner, 1913, которые также в свой жизненный цикл включают водоплавающих птиц и позвоночных. Оба эти семейства являются потенциально опасными, так как уже были зафиксированы случаи заражения человека [15, 16]. Представители Echinochasmidae, уже являющиеся эпидемиологически значимыми объектами, широко распространены как в Европейской части мира, так и в Азиатском регионе. Черви рода *Echinochasmus* могут паразитировать в том числе и у человека, а случаи инвазии отмечали в Китае и Кореи, а инвазивными регионами считаются Япония, Таиланд [10, 17]. На Дальнем Востоке России существует опасность распространения гельминтозов, вызванных *Echinochasmus japonicus* и близкородственными видами. Представители второго семейства трематод – Psilostomatidae, являются космополитической группой паразитов и занимают основное место в патологии птиц. Тем не менее, в 1973 году была найдена и описана трематода *Psilorchis hominis* [15] в результате единичного заражения человека видом, а некоторые

представители семейства уже зафиксированы у млекопитающих впервые. Несмотря на то, что большинство представителей Echinochasmidae и Psilostomatidae еще не считаются патогенными для людей [8], необходимо всесторонне изучать этих трематод, включая проведение системного мониторинга, определение видового состава, а также филогенетических отношений внутри отдельных групп паразитов. Поскольку такие исследования позволят вовремя реагировать на любые изменения паразитофауны отдельных регионов.

В связи со всем вышесказанным, в последние годы проводилось активное изучение представителей семейств Echinochasmidae и Psilostomatidae на территории юга российского Дальнего Востока. В исследовании применялся комплексный подход, включающий изучение морфологических особенностей трематод, а также молекулярно-генетические критерий. Помимо этого, в анализе учитывались данные о циркуляции в жизненном паразите разных хозяев. В результате проведенной работы были выявлены показатели, позволившие описать пять новых восточноазиатских видов из семейства Psilostomatidae (*Sphaeridiotrema ussuriensis*, *S. aziaticus*, *S. monorchis*, *S. aziaticus* и *Psilotrema limosum*), четыре из которых обитают на юге российского Дальнего Востока [18]. Новый виды также были описаны и в семейства Echinochasmidae [19, 20]. Помимо описания видового состава в указанных работах с использованием комплексного подхода, изучены филогенетические отношения внутри семейства, которые позволили оценить достоверность критериев, используемых другими авторами. Полученные данные являются основой для разработки молекулярных диагностикумов, которые позволят оценить распространение трематодозов в окружающей среде и выявить их потенциальное значение на здоровья населения в исследуемом регионе.

Таким образом, на территории юга российского Дальнего Востока в последние годы описано большое количество новых видов трематод млекопитающих и птиц, часть из которых могут быть потенциально опасными для человека, что подчеркивает необходимость продолжения изучения фауны сосальщиков, циркулирующих в указанном регионе. Получение этих данных также важно для понимания биологии паразитов, их биогеографии, мониторинга паразитарных инфекций и создания основы для лечения и профилактики зоонозов и антропонозов, что особенно актуально с учетом трансграничного положения изучаемой территории и возможности миграции трематод из стран Восточной и Юго-Восточной Азии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богатов В.В., Беспрозванных В.В., Прозорова Л.А. Опасные паразитозы на юге Дальнего Востока России в условиях климатических и демографических изменений // Общая паразитология. - 2019. - Т. 487. - No. 4. - С. 465-468.

2. Ahn Y.K., Ryang Y.S., Chai J.Y. Cercarial shedding of *Echinostoma cinetorchis* and experimental infection of the cercariae to several kinds of snails // The Korean Journal of Parasitology. - 1989 - Vol. 27. - No. 3. - P. 203-211.

3. Lee S.H., Chai J.Y., Hong S.T. Experimental life history of *Echinostoma cinetorchis* // The Korean Journal of Parasitology. - 1990. - Vol. 28. - No. 1. - 39-44.

4. Chung P.R., Jung Y., Park Y.K. *Segmentina hemisphaerula*: a new molluscan intermediate host for *Echinostoma cinetorchis* in Korean // Journal of Parasitology. - 2001. - Vol. 87. - No. 5. - P. 1169-1171.

5. Chung P.R., Jung Y., Park Y.K. *Austropeplea ollula* (Pulmonata: Lymnaeidae): a new molluscan intermediate host of a human intestinal fluke, *Echinostoma cinetorchis* (Trematoda: Echinostomatidae) in Korea // Journal of Parasitology. - 2001. - Vol. 39. - No. 3. - P. 247-253.

6. Chai J. Human intestinal flukes. From discovery to treatment and control // Netherlands: Springer. - 2019. - 549 p.

7. Hong S.T., Shoop W.L. *Neodiplostomum seoulense*, the emended name for *Neodiplostomum seoulensis* // Korean Journal of Parasitology. - 1995. - Vol. 33. - No. 4. - P. 399-399.

8. Izrailskaia A.V., Besprozvannykh V.V., Tatonova Y.V. *Echinostoma chankensis* nom. nov., other *Echinostoma* spp. and *Isthmiophora hortensis* in East Asia: Morphology, molecular data and phylogeny within Echinostomatidae // Parasitology. - 2021. - Vol. 148. - No. 11. - P. 1-17.

9. Izrailskaia A.V., Besprozvannykh V.V. *Neodiplostomum cf. seoulense* (Seo, Rim, Lee, 1964) sensu Pyo et al., 2014 (Trematoda: Diplostomidae Poirier, 1886): morphology, life cycle, and phylogenetic relationships // Journal of Helminthology. - 2023. - Vol. 97. - P. 1-11.

10. Гаевская А.В. Мир паразитов человек. I. Трематоды и трематодозы пищевого происхождения / Севастополь: ЭКОСИ-гидрофизика. - 2015. - 411 с.

11. Besprozvannykh V.V., Tatonova Yu.V., Shumenko P.G. Life cycle, morphology of developmental stages of *Metorchis ussuriensis* sp. nov. (Trematoda: Opisthorchiidae), and phylogenetic relationships with other opisthorchiids // Wiley. - 2019. - Vol. 57. - No. 1. - P. 1-17.

12. Shumenko P.G., Tatonova Yu.V., Besprozvannykh V.V. *Metagonimus suifunensis* sp. n. (Trematoda: Heterophyidae) from the Russian Southern Far East: Morphology, life cycle, and molecular data // Parasitology International. - 2017. - Vol. 66. - P. 982-991.

13. Chai, J.-Y., Murrell, K.D., Lymbery, A.J. Fishborne parasitic zoonoses: status and issues // International Journal for Parasitology. - 2005. - Vol. 35. - P. 1233-1254.

14. Tatonova, Y.V., Shumenko, P.G., Besprozvannykh, V.V. Description of *Metagonimus pusillus* sp. nov. (Trematoda: Heterophyidae): phylogenetic relationships within the genus // Journal of Helminthology. 2018. Vol. 92. P. 703-712.

15. Kifune T., Takao Y. Description of *Psilorchis hominis* sp. nov. from man (Trematoda: Echinostomatoidea: Psilostomidae) // Japanese Journal of Parasitology. - 1973. - Vol. - No. 22. - P. 111-115.

16. Sayasone S.S., Tesana S., Utzinger J., Hatz C., Akkhavong K., Odermat. P. Rare human infection with the trematode *Echinochasmus japonicus* in Lao PDR // Parasitology International. - 2009. - Vol. 58. - P. 106-109.

17. Нго, Х.З., Ермоленко А.В. Возбудители трематодозов людей во Вьетнаме // Вестник ДВО РАН. - 2017. - No. 5. - С. 102-106.

18. Kalinina K.A., Tatonova Y.V., Besprozvannykh V.V. New species of *Psilotrema* and *Sphaeridiotrema* (Psilostomidae Odhner, 1913) in the east Asian region: Morphology of developmental stages and genetic data // Parasitology International. - 2022. - Vol. 88. - P. 1-12.

19. Kalinina K.A., Besprozvannykh V.V., Tatonova Yu.V., Shchelkanov M.Yu. A description of *Echinochasmus pseudobeleocephalus* n. sp. (Echinochasmidae) based on morphological and molecular data // Animals. - 2023. - Vol. 13. - No. 20. - P. 1-13.

20. Tatonova Y.V., Izrailskaia A.V., Besprozvannykh V.V. *Stephanoprora amurensis* sp. nov., *Echinochasmus milvi* Yamaguti, 1939 and *E. suifunensis* Besprozvannykh, 1991 from the Russian southern Far East and their phylogenetic relationships within the Echinochasmidae Odhner 1910 // Parasitology. -2020. -Vol. 147. - P. 1469-1479.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА РЕЗИСТЕНТНЫМИ ВАРИАНТАМИ ВИЧ С ПОМОЩЬЮ РОССИЙСКОЙ БАЗЫ ДАННЫХ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ К АНТИРЕТРОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТАМ

А.А. Кириченко, Д.Е. Киреев, М.Б. Глазов, В.Г. Акимкин

ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, РФ

Введение

Благодаря применению антиретровирусной терапии (АРТ) ВИЧ-инфекция из смертельной болезни со 100% летальным исходом превратилась в хроническое заболевание. Современные исследования показывают, что ожидаемая продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных пациентов, своевременно начавших принимать антиретровирусные препараты (АРВП), всего на несколько лет ниже, чем в среднем у населения [1]. К сожалению, вследствие высокой вариабельности ВИЧ и хронического течения болезни, с увеличением охвата пациентов АРТ растет и количество случаев резистентности ВИЧ [2]. В настоящее время лекарственная устойчивость (ЛУ) вируса является одним из основных препятствий в борьбе с распространением ВИЧ-инфекции на планете. Эпидемиологический надзор за ЛУ-вариантами вируса, рекомендованный Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), определяет необходимость проведения периодических дозорных исследований, в рамках которых на изучаемой территории осуществляется секвенирование 200-400 клинических образцов, собранных от ВИЧ-инфицированных [3]. Однако в крупных странах такой подход является трудоемким с одной стороны и малоинформативным с другой. В России пораженность населения ВИЧ-инфекцией сильно варьирует от 84,8 в республике Тыва до 2027,3 на 100 тысяч населения в Кемеровской области (по состоянию на конец 2021 г.), а общее число ВИЧ-инфицированных людей превышает 1 миллион человек [4]. В связи с этим проведение когортных исследований не позволит эффективно, точно и своевременно оценить распространенность ЛУ ВИЧ во всех регионах страны.

С другой стороны, в нашей стране существует развитая сеть специализированных учреждений – центров по профилактике и борьбе со СПИДом, занимающихся профилактикой, диагностикой и лечением ВИЧ-инфекции [5]. Они располагаются в каждом субъекте РФ, и наиболее крупные из них осуществляют секвенирование ВИЧ в рамках оказания медицинской помощи.

Для централизованного сбора и хранения полученных результатов секвенирования (нуклеотидные последовательности ВИЧ), а также сопутствующей эпидемиологической,

клинической и лабораторной информации о пациентах в 2009 году была создана Российская база данных устойчивости ВИЧ к АРВП. Однако до недавнего времени база имела ограниченный функционал, который не позволял использовать ее для эпидемиологического надзора. В связи с этим целью нашей работы явилась разработка современных методов сбора и анализа молекулярной информации о вирусе, а также сопутствующей информации о пациенте с целью совершенствования эпидемиологического надзора за циркуляцией ЛУ-вариантов ВИЧ.

Материалы и методы

При разработке базы данных использовались такие языки программирования, как PHP, JS, HTML, CSS. Внешняя часть приложения была разработана на платформе Bitrix.

Определение генетических вариантов ВИЧ, прогностической ЛУ ВИЧ, выявление мутаций резистентности ВИЧ и оценку контроля качества нуклеотидных последовательностей вируса осуществляли при использовании базы данных Стэнфордского университета (https://hivdb.stanford.edu/).

Анализ на возможную контаминацию клинических образцов проводили с помощью поиска по локальному выравниванию (BLAST). В качестве пороговых значений использовались пороги в 98% и 99% абсолютного и относительного генетического сходства последовательностей соответственно.

Выявление молекулярных кластеров проводили с помощью программного обеспечения Cluster Picker 1.2.3 [6] с порогом bootstrap 0,9 и порогом генетической дистанции 0,045 нуклеотидных замен на позицию (4,5%).

Результаты

В результате усовершенствования базы данных и повышения, в связи с этим, удобства загрузки данных, а также по причине усиления нормативной документации, более чем двукратно увеличилось количество загруженных нуклеотидных последовательностей (с 6276 в январе 2020-го до 15863 в январе 2024-го года), а также трехкратно количество учреждений-пользователей (с 10 до 32). В настоящей момент в базе данных собрана крупнейшая коллекция нуклеотидных последовательностей вирусов, полученных от ВИЧ-инфицированных граждан России, а также уникальные эпидемиологические и клинические данные. В частности, объем информации, собранной о пациентах без опыта АРВТ с диагнозом, поставленным в 2021-м и 2022-м годах, составил 372 и 410 записей соответственно. Таким образом, в рамках рутинного тестирования ЛУ ВИЧ, выполняемого учреждениями, занимающимися диагностикой ВИЧ-инфекции и

изучением ВИЧ, собираются данные о пациентах, превышающие по размерам когортные исследования, рекомендуемые ВОЗ.

Загруженная информация подвергается ежедневному автоматическому анализу, наиболее значимые результаты которого представляются на главной странице сайта (https://ruhiv.ru/).

До проведения основных видов анализа (определения ЛУ ВИЧ, генетических вариантов, молекулярных кластеров) в автоматическом режиме осуществляется проверка нуклеотидной последовательности ВИЧ на потенциальную контаминацию, а также контроль качества нуклеотидных последовательностей вируса для исключения искажения результатов последующих анализов.

Анализ ЛУ ВИЧ, выполненный в декабре 2023 г. показал, что для 7 из 8 федеральных округов России, в которых было представлено достаточное количество данных, распространенность резистентности вируса среди пациентов без опыта приема АРВП варьирует от 10,7% (Северо-Западный) до 15,7% (Сибирский) (рис. 1).

Рис. 1. Распространенность ЛУ ВИЧ среди пациентов без опыта терапии по федеральным округам

При этом за последние 20 лет регистрируется тренд к росту первичной резистентности вируса (резистентности у пациентов без опыта АРТ) в стране (рис. 2).

Рис. 2. Распространенность надзорных мутаций по годам первого положительного результата иммунного блоттинга среди пациентов без опыта терапии

Результаты анализа также указывают на то, что наибольшая распространенность резистентности ВИЧ регистрируется к широко применяемым в РФ АРВП класса ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы - эфавирензу и невирапину (рис. 3), причем выявляемая резистентность является преимущественно высокого уровня, что свидетельствует о том, что применение данных АРВП у пациентов не будет эффективно снижать репликацию вируса.

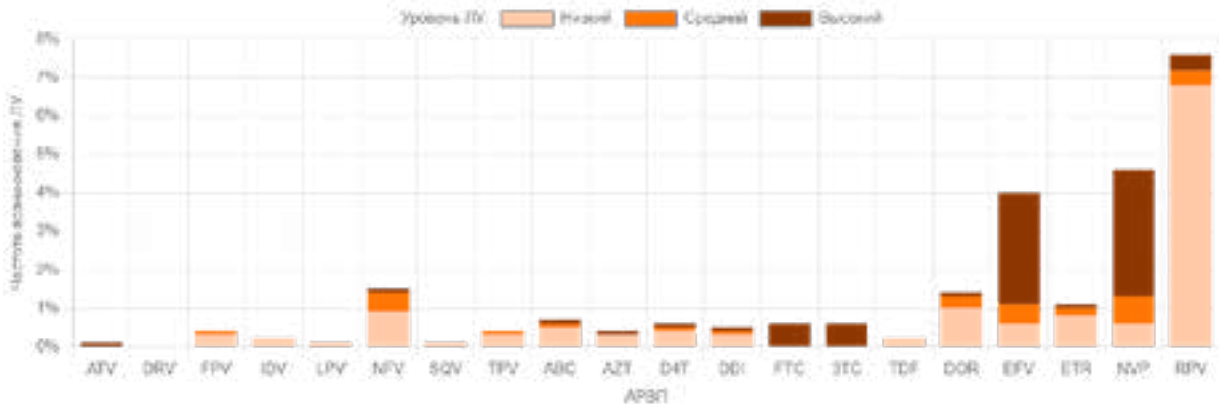


Рис. 3. Распространенность устойчивости ВИЧ к АРВП среди пациентов без опыта терапии

Анализ генетических вариантов ВИЧ, который проводится базой данных так же автоматически, позволяет оценивать циркулирующие на территории РФ генетические варианты ВИЧ, а также регистрировать завозные случаи ВИЧ-инфекции. Результаты анализа

свидетельствуют о высоком генетическом разнообразии ВИЧ (рис.4) и возрастании нетипичных для РФ генетических вариантов вируса.

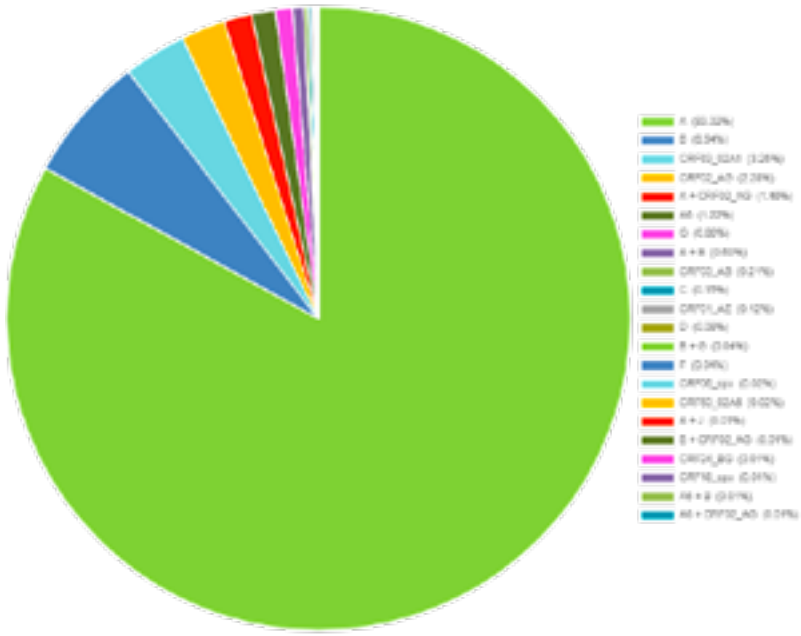


Рис. 4. Распределение генетических вариантов ВИЧ, циркулирующих на территории России

Наиболее современный инструмент по выявлению молекулярных кластеров ВИЧ, разработанный и внедренный в функционал базы данных, позволяет не только регистрировать текущую ситуацию по распространенности ЛУ вируса, но и прогнозировать скорость ее дальнейшего распространения. В качестве пилотного исследования нами был проведен анализ кластеризации пациентов с ВИЧ-инфекцией, проживающих в Орловской области. На рисунке 5 представлены результаты анализа молекулярных кластеров ВИЧ.

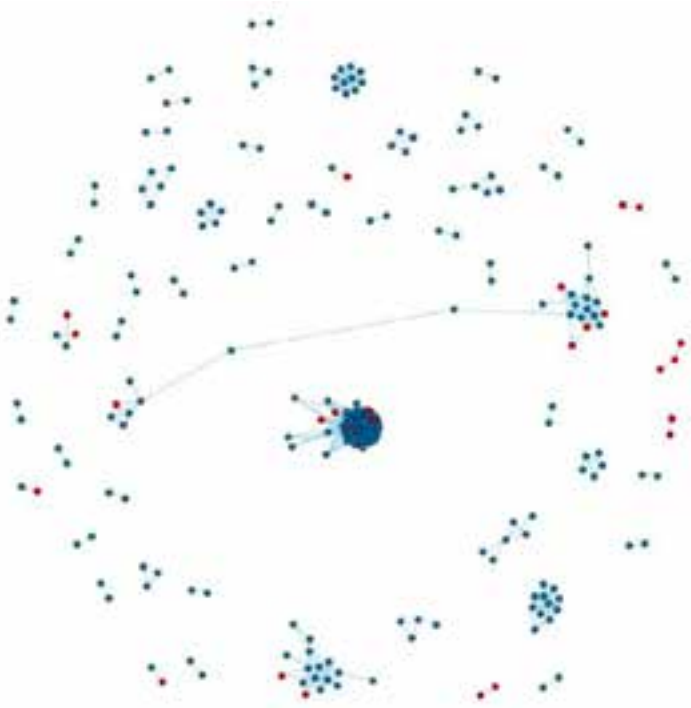


Рис. 5. Точки представляют собой нуклеотидные последовательности ВИЧ. Красный цвет – вирусы, имеющие мутации ЛУ; синий цвет – вирусы без мутаций.

Анализ частоты кластеризации нуклеотидных последовательностей ВИЧ, имеющих мутации резистентности, показал, что ЛУ-варианты вирусов попадали внутрь кластеров реже, чем в исследуемой выборке в целом. Такие результаты указывают на то, что резистентные варианты ВИЧ в регионе распространяются менее активно, чем «дикие» варианты вируса. Кроме того, с помощью данного метода были выявлено, что передается только определенный перечень мутаций резистентности, что позволяет прогнозировать структуру распространяющихся ЛУ-вариантов ВИЧ. Также благодаря методу молекулярных кластеров удалось выявить источник ЛУ-вариантов вируса – пациенты с неэффективной АРТ.

Заключение

Внедрение национальной базы данных устойчивости ВИЧ к АРВП позволяет усовершенствовать информационную и диагностическую подсистемы классического эпидемиологического надзора за распространением резистентных вариантов ВИЧ-1.

В ходе работ по усовершенствованию Российской базы данных устойчивости ВИЧ к АРВП были разработаны стандартизированные и удобные для заполнения формы загрузки молекулярных и эпидемиологических данных, позволившие за 4 года значительно увеличить как количество активных учреждений – пользователей базы, так и объем загружаемой информации.

Инструменты для анализа собранной информации, внедренные в функционал базы, позволяют в оперативном порядке оценивать распространенность ЛУ ВИЧ, в том числе предоставляя результаты стратификации по региону проживания, полу, возрасту, дате постановки диагноза, предполагаемому пути передачи и другим характеристикам пациентов.

Разработанный анализ молекулярных кластеров вируса позволяет сотрудникам специализированных учреждений (центров СПИДа), используя биоинформатические методы, осуществлять прогнозирование распространения резистентности ВИЧ на региональном уровне, оценивать какие схемы АРТ будут наиболее эффективны, выявлять когорту пациентов, которая является источником передающейся ЛУ ВИЧ.

Таким образом, использование Российской базы данных устойчивости ВИЧ к АРВП для осуществления эпидемиологического надзора в регионах или в стране в целом является более эффективным и информативным, а также менее затратным подходом, чем предложенный в зарубежных нормативных документах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Trickey A., et al. Life expectancy after 2015 of adults with HIV on long-term antiretroviral therapy in Europe and North America: a collaborative analysis of cohort studies // The lancet. HIV - 2023. - Vol. 10, № 5. P. e295–e307.
2. Kirichenko A., et al. HIV-1 Drug Resistance among Treatment-Naïve Patients in Russia: Analysis of the National Database, 2006-2022 // Viruses - 2023. - Vol. 15, № 4. P. 991.
3. Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance, July 2017. Geneva: World Health Organization. – URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241550055 (дата обращения: 25.01.2024).
4. Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень №47. Москва, 2023. Специализированный научно-исследовательский отдел по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. – URL: http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2023/05/Byulleten-47-VICH-infektsiya-za-2021-g.pdf (дата обращения: 25.01.2024).
5. Приказ Минздрава СССР от 30 апреля 1987 г. № 621 «О выполнении задач по борьбе со СПИД».
6. Ragonnet-Cronin M. et al. Automated analysis of phylogenetic clusters // BMC Bioinformatics - 2013. - Vol. 14, № 1. P. 317.

MYCOPLASMA GENITALIUM - ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕЙСТВИЮ АНТИБИОТИКОВ, У ПАЦИЕНТОВ В МОСКВЕ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.И. Махова, Н.Д. Гатцаева, Е.Н. Головешкина, В.Г. Акимкин

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

Введение

Mycoplasma genitalium относительно новая бактерия, впервые выделенная в 1980 году [1]. *M.genitalium* на сегодняшний день считается самой мелкой из известных самореплицирующихся бактерий [2, 3]. До появления молекулярно-биологических и генетических методов, из-за ряда биологических особенностей этого микроорганизма изучение было затруднено [3]. Официально ВОЗ в 2016 году отнесла *M.genitalium* к одному из возбудителей инфекций, передаваемых половым путём [4]. В зависимости от обследуемой группы *M.genitalium* встречается у 0,9 - 38% пациентов, среди общей популяции у около 3% населения [5].

Одной из масштабных проблем на сегодняшний день считается возрастающая устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам, которая в том числе затрагивает *M.genitalium*. Причиной неудач в лечении *M.genitalium* макролидами является появление мутаций в 5 домене гена 23S рРНК, в положениях 2058, 2059 и 2062. Отсутствие реакции на применяемое лечение фторхинолонами связывают с мутациями в сайте QRDR гена ParC в положениях 247 - 250 и 259, 260 [6].

Первые случаи антибиотикорезистентности *M.genitalium* были описаны в Австралии, в 2012 - 2013 году показатель уже достигал 56%, а в 2017 - 79% [7, 8]. На территории Европы, США и Японии частота выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью к макролидам, варьируется в широком диапазоне 42 – 82% [9, 10, 11, 12]. Что касается устойчивости к фторхинолонам, то распространенность устойчивых к ним штаммов *M.genitalium* в Европе меньше (4 – 8%), чем в Новой Зеландии (23,3%) и Японии (33%) [13, 14, 15, 16]. Эти результаты были получены до пандемии COVID-19 и в настоящее время ситуация могла ухудшиться.

Таким образом, целью исследования стало изучение частоты выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M.genitalium* к препаратам макролидного и фторхинолонового рядов, у мужчин и женщин на территории Москвы и Московской области.

Материалы и методы

В исследование были включены 734 пациента, проходивших лабораторное обследование во ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора на наличие инфекций, передаваемых половым путём, с мая 2022 года по сентябрь 2023 года.

В качестве биологического материала использовались образцы из урогенитального тракта: отделяемое слизистой оболочки влагалища у женщин и отделяемое слизистой оболочки уретры у мужчин. При выявлении ДНК *M.genitalium*, образцы направлялись в Лабораторию молекулярной диагностики и эпидемиологии инфекций органов репродукции для дальнейшего изучения. Экстракцию ДНК проводили с использованием набора реагентов «ДНК-Сорб-АМ». Для выявления мутаций в гене 23S рРНК и ParC у *M.genitalium* применяли «АмплиСенс® M.genitalium-ML/FQ-Resist-FL». Используемые наборы реагентов (производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, Москва) имеют регистрационное удостоверение и разрешены к использованию на территории Российской Федерации. Экстракцию и амплификацию ДНК из биологического материала проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Статистический анализ достоверности отличия групп проводили с использованием программы: «MedCalc Software Ltd 1993-2023». При значении p-value (p)<0,05 различие групп считали достоверным.

Результаты

Среди протестированных образцов мутации, ассоциированные с резистентностью *M.genitalium* к основным препаратам выбора – макролидам и фторхинолонам, были выявлены в 233 (31,7%) образцах. Всего только в гене 23S рРНК встречались мутации в 71 (9,7%) образце, только в гене parC в 48 (6,5%), чаще всего выявлялись мутации одновременно в генах 23S рРНК и parC в 114 (15,5%) образцах.

В общей сложности было обследовано 495 (67,4%) проб от женщин (средний возраст составил 29±7 лет) и 239 (32,6%) от мужчин (средний возраст составил 32±7 лет).

Несмотря на то, что образцов от женщин было протестировано больше, мутации, ассоциированные с резистентностью *M.genitalium*, значимо чаще встречались у мужчин (93 / 239, 140 / 495;p=0,0038) (Рисунок).

Рисунок – Сравнение частоты выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M.genitalium* к антибактериальным препаратам, у мужчин и женщин.

Обсуждения

По результатам проведенного исследования, доля пациентов с мутациями, обуславливающими устойчивость к действию антибиотиков у *M.genitalium*, составила 31,7%. В сравнении с более ранними данными, доля пациентов с мутациями, выявленными только в гене 23SРНК, выросла с 2018 года в 2 раза (15,7% / 32,3%), только в гене parC в 1,5 раза (13,7% / 20,2%) и в 24 раза (1,96% / 47,6%) выросло количество мутаций одновременно в двух генах [17]. В 1,4 раза чаще мутации встречались в образцах, собранных от мужчин (28,3% / 38,9%).

Заключение

На основании результатов исследования, отмечается увеличение доли случаев с мутациями, ассоциированными с резистентностью у *M.genitalium*, среди населения Московского региона. Нарастающая проблема антибиотикорезистентности, требует принятия мер для наблюдения и контроля за сложившейся ситуацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tully, J.G. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract / J.G. Tully, R. Cole, D. Taylor-Robinson [et al.] // The Lancet. – 1981. – Т. 317. – №. 8233. – С. 1288-1291.

2. McGowin, C.L. The unique microbiology and molecular pathogenesis of Mycoplasma genitalium / C.L. McGowin, P.A. Totten // The Journal of infectious diseases. – 2017. – Т. 216. – №. suppl_2. – С. S382-S388.

3. МЗ РФ. Клинические рекомендации. «Урогенитальные заболевания, вызванные Mycoplasma genitalium». - М.: Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов и косметологов». Российское общество акушеров-гинекологов. 2021.

4. Всемирная организация здравоохранения. Инфекции, передаваемые половым путём. Электронный ресурс. - URL https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)

5. Corrigendum to: British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with Mycoplasma genitalium (2018) (international journal of STD & AIDS, (2019), 30, 10, (938-950), 10.1177/0956462419825948) / S. Soni, N. Pinto-Sander, A. Parkhouse [et al.] // International Journal of STD and AIDS. – 2019. – Vol. 30, No. 10. – P. 1037. – DOI 10.1177/0956462419825948.

6. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in Mycoplasma genitalium: a systematic review and meta-analysis / D.A. Machalek, Y. Tao, H. Shilling [et al.] // The lancet infectious diseases. – 2020. – Т. 20. – №. 11. – С. 1302-1314.

7. Multiplex assay for simultaneous detection of Mycoplasma genitalium and macrolide resistance using PlexZyme and PlexPrime technology / S.N. Tabrizi, L.Y. Tan, S. Walker [et al.] // PloS one. – 2016. – Т. 11. – №. 6. – С. e0156740.

8. Mycoplasma genitalium: high prevalence of resistance to macrolides and frequent anorectal infection in men who have sex with men in western Sydney / D.L. Couldwell, D. Jalocon, M. Power [et al.] // Sexually transmitted infections. – 2018. – Т. 94. – №. 6. – С. 406-410.

9. Surveillance of the prevalence of macrolide and/or fluoroquinolone resistance-associated mutations in Mycoplasma genitalium in Japan / T. Deguchi, S. Ito, M. Yasuda [et al.] // Journal of infection and chemotherapy. – 2018. – Т. 24. – №. 11. – С. 861-867.

10. Detection of markers predictive of macrolide and fluoroquinolone resistance in Mycoplasma genitalium from patients attending sexual health services in England / R. Pitt, H. Fifer, N. Woodford, S. Alexander // Sexually transmitted infections. – 2017.

11. Mycoplasma genitalium prevalence, coinfection, and macrolide antibiotic resistance frequency in a multicenter clinical study cohort in the United States / D. Getman, A. Jiang, M. O'Donnell, S. Cohen // Journal of clinical microbiology. – 2016. – Т. 54. – №. 9. – С. 2278-2283.

12. Dumke, R. Emergence of Mycoplasma genitalium strains showing mutations associated with macrolide and fluoroquinolone resistance in the region Dresden, Germany / R. Dumke, A. Thürmer, E. Jacobs // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2016. – Т. 86. – №. 2. – С. 221-223.

13. Remarkable increase in fluoroquinolone-resistant Mycoplasma genitalium in Japan / M. Kikuchi, S. Ito, M. Yasuda [et al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2014. – Т. 69. – №. 9. – С. 2376-2382.

14. Prevalence of Mycoplasma genitalium and macrolide resistance among asymptomatic people visiting a point of care service for rapid STI screening: a cross-sectional study / M.

Fernández-Huerta, M.J. Barberá, J. Esperalba [et al.] // Sexually Transmitted Infections. – 2020. – Т. 96. – №. 4. – С. 300-305

15. Mycoplasma genitalium Macrolide and Fluoroquinolone Resistance / M.J. Barberá, M. Fernández-Huerta, J.S. Jensen [et al.] // Sexually transmitted diseases. – 2017. – Т. 44. – №. 8. – С. 457-462.

16. Anderson, T. Mycoplasma genitalium macrolide and fluoroquinolone resistance detection and clinical implications in a selected cohort in New Zealand / T. Anderson, E. Coughlan, A. Werno // Journal of Clinical Microbiology. – 2017. – Т. 55. – №. 11. – С. 3242-3248.

17. Распространенность и тип мутаций у пациентов дерматовенерологического профиля московского региона за период 2014-2018 гг. / И.В. Романова, В.И. Кисина, Г.А. Хайруллина [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 7-12. – DOI 10.17116/klinderma2020190117.

БИОПЛЕНКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ КАК ФАКТОР ПЕРСИСТЕНЦИИ В СЛОЖНОМ ПАРАЗИТАРНОМ БИОЦЕНОЗЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ

Е.Г. Оглодин, Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, В.В. Кутырев

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

e-mail: rusrapi@microbe.ru

Аннотация. Возбудитель чумы, циркулирующий в природе на грызунах и их блохах, адаптирован к выживанию в различных условиях окружающей среды. Периоды проявления эпизоотической активности в природных очагах чередуются с межэпизоотическими периодами, в течение которых отсутствуют зараженные грызуны и блохи, а *Yersinia pestis* сохраняется в не установленном природном резервуаре. Для многих очагов характерны длительные межэпизоотические периоды, которые нельзя объяснить классической трансмиссией возбудителя. Для объяснения механизмов сохранения возбудителя чумы и быстрого начала эпизоотий после длительных межэпизоотических периодов разработана гипотеза вертикальной трансмиссии, предусматривающая сохранение возбудителя чумы в экосистеме почв очага с последующим выносом инфекции в наземный биоценоз.

Цель исследования - определение роли биопленок *Y. pestis* в биоценозе природных очагов возбудителя чумы.

Результаты и обсуждение. В качестве возможных резервуаров возбудителя чумы, могут выступать ассоциации с простейшими, биопленки на кутикуле нематод и пищеварительном тракте блох. Образование биоплёнки при оптимальной влажности и температуры, наличие переносчиков и носителей, может создавать условия для переноса *Y. pestis* из почвенного в наземный биоценоз. Проведенные исследования по моделированию выживания возбудителя чумы в условиях нор грызунов показывают возможность длительного сохранения *Y. pestis* в *A. castellanii* в экспериментах и активизацию рассматриваемых резервуаров с образованием смешанных биопленок. Наличие у возбудителя чумы кластера генов утилизации N-ацетилглюкозамина позволяет предположить о возможности использования этого матрикса для энергетического обмена *Y. pestis* в составе биопленок. Полученные данные показывают возможность уменьшения объема полевых исследований теплокровных животных и влияния на экосистему природных очагов чумы с помощью диагностических критериев контроля почвенных популяций *Y. pestis* и разработки молекулярно-генетических технологий по мониторингу состояния и состава почвенного биоразнообразия в микроочагах.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, биопленки, природные очаги чумы, механизмы персистенции, Acanthamoeba

Чума – зоонозная особо опасная природно-очаговая болезнь, циркулирующая в природе на грызунах и их блохах. Природные очаги расположены на всех континентах южнее 51° с. ш., практически во всех климатических зонах, кроме Австралии и Антарктиды [1]. Это свидетельствует об адаптации *Y. pestis* к выживанию в различных условиях окружающей среды. Однако грызуны обитают и севернее этой широты. Причины такого географического распространения возбудителя не установлены. Этиологическим агентом чумы является бактерия *Yersinia pestis*, которая вызывает эпизоотии чумы грызунов, приводящие к их массовой гибели. Периоды эпизоотической активности во многих природных очагах чумы чередуются с межэпизоотическими периодами, в течение которых возбудитель чумы сохраняется в до настоящего времени не установленном природном резервуаре. Для многих очагов характерны длительные межэпизоотические периоды до 50 лет, на протяжении которых отсутствуют зараженные грызуны и блохи, которые нельзя объяснить классической трансмиссией возбудителя.

Для объяснения механизмов выживания возбудителя чумы во время длительных межэпизоотических периодов было предложено множество гипотез. В том числе предполагалось, что возбудитель чумы сохраняется в межэпизоотический период, циркулируя в энзоотических циклах в организме частично резистентных животных [2, 3]; персистирует в почве – теллурическая чума [4,5] или в симбиозе с сапрофитными почвенными бактериями [6]. Предполагалось также сохранение возбудителя в некультивируемом состоянии в почвенных Protozoa [7-9], в сапрофитической форме [10] и даже в вегетативных органах растений [7]. Для объяснения механизмов сохранения возбудителя чумы и быстрого начала эпизоотий после длительных межэпизоотических периодов разработана гипотеза вертикальной трансмиссии [11,12]. Гипотеза вертикальной трансмиссии объясняет длительное сохранение возбудителя чумы в экосистеме почв очага чумы с последующим выносом инфекции в наземный биоценоз. Эта гипотеза предусматривает образование биопленок чумы в ассоциации с почвенными простейшими; в пищеварительном тракте блох; на кутикуле в пищеварительном тракте нематод. Вертикальная трансмиссия включает несколько этапов: образование биопленок *Y. pestis*, перенос в личинки нематод, заражение возбудителем личинок блох при инвазии зараженными личинками нематод, метаморфоза зараженных куколок блох во взрослого переносчика – имаго блохи, трансмиссию *Y. pestis* в организм носителя-грызуна при укусе блохи. При этом перенос возбудителя чумы из почвенного в наземный биоценоз возможен при сочетании оптимальной температуры и влажности, а также при наличии переносчиков (эктопаразитов) и носителей (грызунов). Ряд данных подтверждает справедливость сформулированной гипотезы. Зараженность энтомопатогенными нематодами в популяции блох может достигать 40%. Описана энтомопатогенная полигостальная нематода *Rubzovinema polyxenica*, широко распространенная на территории очагов степной зоны Восточной

Европы и Центральной Азии и поражающая многие виды блох. Эта нематода рассматривается как кандидат на перенос биопленок чумы [13, 14].

Рядом исследователей экспериментально показана возможность краткосрочного выживания чумного микроба в таких простейших, как *Hartmanella spp*. [15], *Dictyostelium spp.* [16], *Acanthamoeba castellanii* [17]. Показана возможность длительного сохранения возбудителя в *A. castellanii* в экспериментальных условиях [18]. Эти данные позволяют рассматривать простейших в качестве возможных природных резервуаров чумы. Однако эти исследования носят фрагментарный характер и убедительных доказательств сохранения возбудителя чумы в почвенных экосистемах природных очагов до сих пор не получено.

Цель исследования заключалась в определении роли биопленок *Y. pestis* в биоценозе природных очагов возбудителя чумы.

Материалы и методы. В работе использовался штамм *Y. pestis* 367 GFP и аксеническая культура амеб *Acanthamoeba castellanii.* Эксперименты по со-культивированию акантамеб и *Y. pestis* проводились в буферном растворе PYG без источников углерода. Совместное культивирование *Y. pestis* и *A. castellanii* проводили до полного поглощения клетками амеб бактерий из буферного раствора и отсутствия КОЕ на агаре во всех разведениях. Культивирование простейших и бактерий проводили по методике, описанной ранее [19, 20].

Для исследования активизации предполагаемых резервуаров возбудителя чумы использовали цисты акантамеб, которые полностью поглотили *Y. pestis* из буферного раствора. Полученные таким образом цисты отбирали по 1мл и промывали трехкратно осаждением при 1000 об/мин и ресуспендированием в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) pH 7. После осаждения цисты обрабатывали смесью ферментов 10 ед. целлюлазы и 1 ед. хитиназы в течении 24 часов в ФСБ в трех повторах. Затем разделяли полученные таким образом опытные смеси ферментов и цист амеб для параллельной обработки 5 ед. протеиназы К в течении 6 часов. Полученные активированные цисты высевали на твердые питательные среды и в стандартную для амеб жидкую питательную среду PYG с 5% ЭТСК.

Для моделирования условий норы почву отбирали на глубине 40 см из нор грызунов Горно-Алтайского Высокогорного очага чумы. Навески 28 г сухой почвы стерилизовали паром при 121°С и добавляли к стерильному субстрату 2 мл смеси *Y. pestis* и *A. castellanii* в соотношении 10^5 КОЕ бактерий и 10^3 клеток амеб. Сокультивирование проводили по методике, описанной нами выше, полученную смесь вносили в стерилизованную почву на трех стадиях сокультивирования: на 1-е сутки (поглощение *Y. pestis* амебами *A. castellanii*), на 14-е сутки **(**рост КОЕ *Y. pestis*) и на 28-е сутки **(**адаптация *Y. pestis*). Кроме того, в качестве контрольных пробирок использовали

культуры амеб и возбудителя чумы для контроля выживаемости бактерий и акантамеб по отдельности друг от друга [20]. После внесения опытных смесей в почвенный субстрат проводили параллельные контрольные высевы из жидкой среды полученных сообществ амеба-бактерия.

Результаты и обсуждение. Экология бактериальных видов определяется прежде всего свойствами самих бактерий, и генетической информацией, содержащейся в их геномах. Эпидемическая опасность очаговых территорий и вероятность заражения чумой человека зависит от вирулентности и эпидемической значимости циркулирующих штаммов возбудителя чумы. Установлено, что штаммы возбудителя чумы отличаются по вирулентности и эпидемической значимости. В соответствии с усовершенствованной классификацией вид *Y. pestis* включает 7 подвидов, штаммы которых отличаются по вирулентности и эпидемической значимости. Это: основной подвид – ssp. *pestis* (биовары античный, средневековый, восточный, intermedium) и шесть неосновных подвидов: кавказский, ангольский, центральноазиатский ssp. (биовары: алтайский, гиссарский, таласский, microtus), улегейский, тибетский, цинхайский [21, 22]. Штаммы основного подвида высоко вирулентны и эпидемически значимы, распространены на большинстве континентов. Штаммы неосновных подвидов имеют избирательную вирулентность и низкую эпидемическую значимость, распространены в основном в эндемичных очагах Евразии. Отличия в свойствах и генетические особенности разных подвидов сформировались в процессе их эволюционной адаптации к существованию в разных ландшафтно-географических условиях. Поскольку в процессе своей эволюции от предшественника – псевдотуберкулезного микроба возбудитель чумы вступил на паразитический путь существования и претерпел ряд редуктивных изменений генома, то он не способен выживать самостоятельно в экосистеме природных очагов и в период отсутствия эпизоотий однозначно должен сохраняться в организме-резервуаре. *Y. pestis* имеет векторный механизм передачи, который может быть связан с произошедшей у него утратой ряда генов токсичности для насекомых *ureD*, *rcsA*, *flhD*, *pde2* и *pde3*. Также образование псевдогенов привело к понижению энтомопатогенности возбудителя чумы, что послужило преимуществом для формирования трансмиссивного пути передачи инфекции через укусы эктопаразитов [23]. Перенос возбудителя чумы из почвы в наземный биоценоз может быть осуществлен личиночными стадиями массовых энтомопаразитических нематод (ЭПН), обитающих в почвах нор грызунов. Наличие различных симбиотических энтомопатогенных бактерий у ювенильной стадии ЭПН позволяет распространяться в почвенной экосистеме не только самим нематодам, но и их симбионтам. Однако, эта гипотеза не объясняет наличие резервуара *Y. pestis* для переживания неблагоприятных условий в течении десятилетий межэпизоотических периодов природных очагов [24].

В последнее время появляется все больше данных о сохранении возбудителей опасных инфекций в почвенных амебах и других многочисленных членах почвенных и водных биоценозов. В том числе показано, что в амебах в течение длительного времени могут сохраняться *Francisella tularensis, Vibrio cholerae, Legionella pneumophila, Mycobacterium leprae* и другие опасные патогены [25, 26]. Амебы занимают важное место в почвенных биотопах, играя роль связующего звена между макрокосмом и микрокосмом. Амебы в таких сообществах являются основными хищниками бактерий [16]. Поскольку *Y. pestis* может образовывать биоплёнки на биотических поверхностях, возможна ассоциация между амебами и возбудителем чумы в составе биопленок, что является актуальным вопросом в области выживания возбудителя чумы в межэпизоотический период.

Общий подход определения простейших как почвенных макрофагов позволяет рассматривать аналогичные механизмы взаимодействия родственных патогенов и амеб. Для *Vermamoeba rhysodes*, *A. castellanii, A. lenticulata, A. polyphaga, D. discoideum* и ряда других амеб показаны ассоциации с *Y. pestis, Y. enterocolitica,* а также *Y. pseudotuberculosis,* с различным уровнем эффективности выживания патогенов внутри простейших [4,5]. Однако, гипотетические выводы и схемы циркуляции возбудителя чумы в природных очагах либо не включали в себя постоянные контакты с другими членами почвенных биотопов, либо объясняли только один из видов взаимодействия *Y. pestis* с амебами – переживание неблагоприятных условий в короткое время в качестве внутриклеточного паразита.

Отличия в выводах исследователей по способности определенных видов амеб сохранять *Y. pestis* вероятно связаны с методологическими особенностями выбора объектов и проведения исследований и экспериментов. Напротив, выделенные из природных очагов штаммы простейших и возбудителя чумы позволяют провести приближенное к природным условиям моделирование взаимодействия штаммов *Y. pestis* и амеб, поскольку они получены из одинаковых биотопов природных очагов чумы и должны иметь адаптацию к совместному выживанию. В результате проведенного моделирования сохранения возбудителя чумы в почве были обнаружены две КОЕ *Y. pestis* через 18 месяцев наблюдения в опытных образцах, в то время как в контрольных были акантамебы с почвенной микрофлорой. Таким образом, *A. castellanii* показали возможность использовать свои клетки в качестве резервуара для возбудителя чумы в течении 18 месяцев. Рассматриваемые опытные образцы смеси акантамеб и возбудителя чумы использовались в качестве модели выживания в почвенном биотопе нор грызунов природных очагов.

Поскольку *Y. pestis* циркулирует в природных очагах и возможно длительное сохранение в клетках акантамеб в условиях постоянного контакта с другими членами почвенного сообщества, возможно воздействие на цисты амеб ферментами, продуцируемыми различными почвенными бактериями, миксомицетами и др. В результате проведенных исследований по активизации

предполагаемых резервуаров мы установили, что воздействие пары ферментов целлюлаза – хитиназа в течении 24 часов приводит к выходу акантамеб из цист и образованию трофозоитов на 4 сутки в жидкой питательной среде PYG с 5% ЭТСК. Кроме того, добавление протеиназы к этой смеси ферментов уменьшало время выхода до двух суток и приводило к образованию смешанной биопленки *Y. pestis – A. castellanii* на дне культуральных флаконов. Образцы амеб, обработанные только парой ферментов целлюлаза – хитиназа, образовывали схожие структуры на несколько дней позже. Через две недели после начала активизации *A. castellanii* мы наблюдали сплошной рост *Y. pestis* на плотных питательных средах с добавлением 2% ЭТСК и гемолизированной крови. Подтверждение полученной бактериальной культуры получили методом ПЦР-РВ с набором реагентов «ген *Yersinia pestis* индикация – *РГФ»* и диагностическими бактериофагами.

Таким образом, мы показали возможность активизации акантамеб и выхода их из состояния покоя под действием ферментов хитиназы, целлюлазы и протеиназы, которые в свою очередь могут продуцироваться членами почвенного микробиома. Наличие в почве нор грызунов подавляющего большинства представителей царства Bacteria, а также разнообразие доминирующих актинобактерий может свидетельствовать об их приспособленности к обитанию в почве нор грызунов [27]. Способность представителей типа Актинобактерий к разложению органических веществ и продукции специфических бактериоцинов, а также ряда ферментов может играть роль в активизации цист амеб, при наступлении таких благоприятных условий для протекания этого процесса, как температура и влажность. В свою очередь, температура образования биопленок 13-26°С и оптимальный уровень влажности совпадает с климатическими условиями начала эпизоотий чумы.

Для биопленок возбудителя чумы основным структурным полисахаридом является N-ацетилглюкозамин (N-АГ). Мы провели поиск генов утилизации N-АГ у штамма *Y. pestis* 4.ANT из Горно-Алтайского высокогорного очага чумы в сравнении с *L. pneumophila* и *F. tularensis* с помощью RAST [28] и выявили наличие части кластера обмена N-АГ, а также возможность к использованию в качестве источника энергии линейного N-АГ. Таким образом, возможно сохранение возбудителя чумы в составе межвидовых биопленок, в которых для энергетического обмена могут использоваться лизированные сложные углеводы клеточных стенок (хитин, целлюлоза).

Установление механизмов персистенции возбудителя чумы и природных резервуаров инфекции в экосистеме очагов чумы имеет чрезвычайно важное значение, поскольку позволяет выяснить ключевые характеристики экологии возбудителя и причины чередования фаз активности и покоя природных очагов чумы, установить закономерности пространственно-временной циркуляции штаммов и эволюционных изменений генома. На практике понимание особенностей

персистенции возбудителя важно для осуществления эффективного эпидемиологического мониторинга природных очагов чумы в части определения направлений и объема проводимых в природных очагах мер по контролю и профилактике чумы, оптимизации объема противоэпидемических и профилактических мероприятий с установлением участков постоянного сохранения чумного микроба в ассоциации с членами почвенных биоценозов. Реализация полученных данных на практике потребует создания диагностических критериев контроля почвенных популяций *Y. pestis* с использованием молекулярно-генетических технологий и разработки методов предупреждения активизации проявлений чумы в микроочагах, что обеспечит сокращение объема полевых исследований теплокровных животных и проводимых профилактических мер в природных очагах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова А.Ю., Кутырев В.В. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств // Калининград: РА Полиграфычъ, 2022. — 348 с.

2. Baltazard M., Mofidi C. Sur la peste inapparente des rongeurs sauvages // C. R. Acad. Sci. — 1950. — V231. — P.731 – 733.

3. Gage K. L., Ostfeld R. S., Olson J. G. Nonviral vector-borne zoonoses associated with mammals in the United States // J. Mammal. 1995. — V76. — P.695–715.

4. Baltazard M. The conservation of plague in inveterate foci // J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 1964. — V120. — P.409–421.

5. Baltazard M., Karimi Y., Eftekhari M., Chamsa M., Mollaret H. H. The interepizootic preservation of plague in an inveterate focus. // Working hypotheses. Bull. Soc Pathol Exot Filiales 1963. — V56. — P.1230 — 1245.

6. Ларина В.С., Степанов В.М., Айкимбаев А.М. О сущности гипотезы сохранения чумного микроба в скрытой форме в сложном симбиозе с новым хозяином - почвенными микроорганизмами // Организация эпиднадзора при чуме и меры ее профилактики: Матер.конф. Алма-Ата,1992. — С.129. — 132.

7. Бухарин О.В., Литвин В.Ю. Патогенные бактерии в природных экосистемах. // Екатеринбург, УрО РАН. 1997. — 277 с.

8. Домарадский И.В. Не является ли чума «протозоонозом»? (О роли Protozoa в эпизоотологии чумы) // Мед. паразитол. 1999. — No2. — С.10-13.

9. Литвин В.Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы // Успехи соврем. биол. 2003. — No 6. — С.543-551.

10. Дятлов А.И. О непаразитарном механизме энзоотии чумы // Экология возбудителей сапронозов // — М., 1988. — С. 105 — 117.

11. Кутырев В.В., Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Видяева Н.А., Коннов Н.П. Молекулярные механизмы взаимодействия возбудителя чумы с беспозвоночными животными // Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2009. — No 4. — С. 7 – 12.

12. Попов Н.В., Кошель Е.И., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Формирование современных представлений о механизмах энзоотии чумы. // Проблемы особо опасных инф. 2011. — No3(109). — С. 5 — 8.

13. Koshel E. I., Aleshin V. V., Eroshenko G. A., Kutyrev V. V., Phylogenetic Analysis of Entomoparasitic Nematodes, Potential Control Agents of Flea Populations in Natural Foci of Plague // BioMed Research International. 2014. — Article ID 135218, 26 pages.

14. Ерошенко Г.А., Кошель Е.И., Поршаков А.М., Князева Т.В., Краснов Я.М., Мокроусова Т.В., Новичкова Л.А., Анисимова Л.В. Характеристика энтомопаразитических нематод блох мелких грызунов // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. — No 3. — С. 32-37.

15. Никульшин С.В., Онацкая Т.Г., Луканина Л.М., Бондаренко А.И. Изучение ассоциаций почвенных амеб *Hartmannella rhysodes* с бактериями-возбудителями чумы и псевдотуберкулеза в эксперименте. // Журнал микробиологии эпидемиологии иммунологии. 1992. — No 9. — 10. — С. 2 — 5.

16. Markman, D. W., Antolin, M. F., Bowen, R. A., Wheat, W. H., Woods, M., Gonzalez-Juarrero, Jackson, M. *Yersinia pestis* survival and replication in potential ameba reservoir // Emerging Infectious Diseases. 2018. — V. 24(2). — P. 294 — 302. doi.org/10.3201/eid2402.171065.

17. Benavides-Montañoa, J. A., Vadyvaloo, V. *Yersinia pestis* resists predation by *Acanthamoeba castellanii* and exhibits prolonged intracellular survival // Appl Environ Microbiol. 2017. — V. 83. — Is. 13. doi.org/10.1128/AEM.00593-17.

18. Кошель Е.И., Ерошенко Г.А., Анисимова Л.В., Новичкова Л.А., Широков А.А., Буров А.М., Кузнецов О.С., Кутырев В.В. Оценка длительности сохранения штаммов *Yersinia pestis* в клетках почвенных амеб *Acanthamoeba sp.* в экспериментальных условиях // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. — No 2. — P. 69 — 74.

19. Куклева Л.М., Тучков И.В., Оглодин Е.Г., Девдариани З.Л., Морозов О.А., Кузнецов О.С., Германчук В.Г., Ерошенко Г.А. Получение штамма *Yersinia pestis*, продуцирующего флуоресцентный белок GFP, и перспективы его использования. // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. — No 4. — С. 61 — 66. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-61-66.

20. Макашова М.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Шарапова Н.А., Нарышкина Е.А., Германчук В.Г., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Длительное сохранение *Yersinia pestis* в ассоциации с *Acanthamoeba castellanii* в эксперименте. // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. — No 4. – – С. 82-89. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-4-82-89.

21. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., et al. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of commonwealth of independent states. // Front. Microbiol. 2018. — No 9. — Article id:14043.

22. Ерошенко Г.А., Батиева Е.Ф., Кутырев В.В. Палеогеномика возбудителя чумы и перспективы палеогеномных исследований на территории России. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. — No 2. — P. 13 — 28. doi.org/10.21055/0370-1069-2023-2-13-28.

23. Chouikha I, Hinnebusch BJ. Silencing urease: A key evolutionary step that facilitated the adaptation of *Yersinia pestis* to the flea-borne transmission route. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. — V. 111. — P. 18709 — 18714.

24. Laudisoit A. Diversity, ecology and status of potential hosts and vectors of the plague bacillus *Yersinia pestis*. Contribution to plague epidemiology in an endemic plague focus: the lushoto district (Tanzania). // Thesis for: phD in Biological SciencesAdvisor: Pf. Dr. Herwig Leirs & Dr. Roland Libois. 2009. — P. 259. DOI:10.13140/RG.2.2.25362.25281.

25. Abd H., Johansson T., Golovliov I., Sandstrom G., Forsman M. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. // Appl. Environ. Microbiol. 2003. — V.69 — P. 600–606. PMID: 12514047.

26. Greub G., Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. // Clin. Microbiol. Rev. 2004 — V.17 — P. 413–433. PMID: 15084508.

27. Kutyrev V.V., Oglodin E.G., Eroshenko G.A., Popov N.V. Modern view on the problems of ecology of the plague agent. // Proceedings of International Symposium «Yersinia 14» (Saint-Petersburg, September 26-28). 2022. — P. 56.

28. Aziz, R.K., Bartels, D., Best, A.A. *et al.* The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. // BMC Genomics 2008. — V. 9(75). https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75.

ВЫЯВЛЕНИЕ ДОМИНИРУЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В «ДОКОВИДНОМ» ПЕРИОДЕ И ВО ВРЕМЯ ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

И.С. Полищук, А.В. Алешукина, И.С. Березинская

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение. Актуальной проблемой здравоохранения являются внебольничные пневмонии (ВП). По данным литературы, Streptococcus pneumoniae считается доминирующим агентом пневмоний, вызывая от 35-80% случаев заболеваний у разных возрастных групп [1]. Такой разброс в показателях объясняется трудностями в получении образцов мокроты, различиями в чувствительности применяемых диагностических сред и тестов, использованием антимикробных препаратов (АМП) для лечения заболевания до проведения этиологической диагностики [2]. Среди других типичных бактериальных возбудителей ВП заметная роль принадлежит Haemophilus influenzae, грамотрицательным микроорганизмам семейства Enterobacteriaceae, неферментирующим грамотрицательным бактериям (НГОБ), роду Staphylococcus spp. [3].

Клинические проявления COVID-19 оказались нестандартными для возбудителей острых респираторных заболеваний. В начале пандемии в Китае сопутствующие бактериальные инфекции доминировали у тяжелых пациентов с COVID-19. Наиболее распространенными возбудителями были *S. pneumoniae*, за ним следовали *K. pneumoniae* и *H. influenza* [4].

Однако последующие исследования показали, что в среднем только у 7-14% госпитализированных пациентов с COVID-19 развивается вторичная бактериальная инфекция [5–8]. Среди распространенных бактериальных агентов, осложняющих течение коронавирусной инфекции, в начале пандемии указывались *Pseudomonas aeruginosa* и *H. influenza* [9, 10, 11]. Позже в литературных данных отмечалось, что вирусные пневмонии, вызванные SARS-CoV-2, нередко осложняются присоединением бактерий *p. Staphylococcus spp.* и *p. Klebsiella* [12, 13], при этом летальность из-за вторичной бактериальной инфекции возрастала до 15,2%. Отдельные исследования свидетельствовали о сопутствующих грибковых инфекциях, в том числе в виде грибкового сепсиса, легочного аспергиллеза [14, 15]. Несмотря на невысокий процент, развития вторичной бактериальной инфекции, микрофлора играет важную роль в возникновении и развитии заболевания COVID–19 [16, 17]. Несмотря на то, что антибактериальные препараты не оказывают влияния на коронавирус, с начала пандемии от 72 до 80% пациентов с COVID-19 получают антибиотики [18, 19]. Вопрос необходимости назначения антибактериальной терапии и времени ее включения в схему лечения COVID-19 остается открытым [20–23].

Постоянно меняющаяся чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам требует мониторинга.

Цель исследования – выявить доминирующие возбудителя внебольничных пневмоний в «доковидный» период и во время пандемии коронавирусной инфекции.

Материалы и методы. С 2017 по 2022 гг. был проведен ретроспективный анализ исследований микрофлоры, выделенной из мокрот (n=773) пациентов медицинской организации (МО) Ростов-на-Дону и (n=141) ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора.

Первичный посев клинического материала проводили количественным методом на питательные среды отечественного производства в соответствии с нормативными документами [22]. Для выявления *S. pneumoniae*, *H.influenza* и *Streptococcus spp*. применяли 5% кровяной и шоколадный агар с селективной добавкой для выделения пневмококков (СД-П) (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Россия). Последующую идентификацию выделенных штаммов бактерий осуществляли с помощью времяпролетной масс-спектрометрии MALDI-TOF на аппарате Microflex Biotyper (Bruker Daltonics, Германия), микробиологического анализатора Vitek 2 Compact (Biomeriux, Франция), полуавтоматического бактериологического анализатора Sensititre (Trek Diagnostic Systems, Великобритания). Резистентность к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллер-Хинтон в соответствии с МУК 4.2.1890-04 и Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2018-03) [23]. За этиологический фактор принимались только те виды микроорганизмов, которые выделялись из мокроты в количестве 10^6 КОЕ в 1 мл и выше. Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием программы Excel 2013.

Результаты и обсуждение. В период с 2017 по 2019 годы при бактериологическом исследовании мокроты от больных МО выделено 2425 штамма бактерий. (Таблица №1).

Таблица 1

Микробные возбудители ВП «доковидного» периода

Годы	2017		2018		2019	
	абс.ч	M±m%	абс.ч	M±m%	абс.ч	M±m%
Число исследованных образцов	329	42,6±1,0	228	29,5±0,9	216	27,9±0,9
Количество выделенных штаммов	867	35,7±1,6	726	29,9±1,7	832	34,3±1,6
НГОБ	19	2,2±0,5	34	4,7±0,8	36	4,3±0,7
р. Candida spp.	196	22,6±1,4	175	24,1±1,6	186	22,4±1,4
р. Enterococcus spp.	31	4,0±0,7	29	4,0±0,8	44	5,3±0,8
сем. Enterobacteriaceae	27	3,5±0,6	33	4,3±0,9	45	5,4±0,8
р. Heamophilus	2	0,3±0,1	2	0,3±0,1	2	0,2±0,1
р. Moraxella spp.	2	0,3±0,1	2	0,3±0,1	0	0
р. Staphylococcus spp.	55	7,1±0,9	46	6±1,3	52	6,3±0,8
р. Streptococcus spp.	159	20,6±1,4	97	13,4±1,2	116	13,9±1,2
Другие микроорганизмы	376	48,6±1,7	308	39,8±1,8	351	41,2±1,7

Наиболее часто из мокрот выделялись дрожжеподобные грибы *р. Candida spp.* - 557 изолятов (23,0±0,9%). Выявленные бактерии рода *Streptococcus spp*. (372 изолята, 15,3±0,7%.) относились к 4 видам: *S. pneumoniae, S. pyogenes, S. viridans, S. agalactiae.* 91 культура относились к виду *S. pneumoniae* (3,8±0,4% от общего количества выделенных культур). Штаммы *S. viridans* были выделены в 11,0±0,6%, *S. pyogenes* - 0,3%±0,1%, *S. agalactiae* - 0,2±0,1%. Микроорганизмы *р. Staphylococcus spp.* составляли 6,3±0,5%. Было выделено 104 культуры рода *Enterococcus spp.* (4,3±0,4%). *Klebsiella spp.* и *Escherichia spp*. - представители семейства *Enterobacteriaceae,* были обнаружены в 4,3±0,4% случаев. Также выделено 2 штамма НГОБ: видам *Pseudomonas aeruginosa* -1,4±0,2% и *Acinetobacter baumannii* - 2,3±0,3%.

При бактериологическом исследовании мокроты от больных с ВП в период пандемии с 2020 по 2022 год выделено 543 штамма бактерий (таблица №2).

Таблица 2

Микробные возбудители периода пандемии коронавирусной инфекции

Годы	2020		2021		2022	
	абс.ч	M±m%	абс.ч	M±m%	абс.ч	M±m%
Число исследованных образцов	65	46±4,2	38	27±3,7	38	27±3,7
Количество выделенных штаммов	298	54,9±2,1	131	24,1±3,7	114	21,0±3,8
НГОБ	0	0	0	0	2	0,9±0,1
р. Candida spp.	61	20,4±1,7	32	5,9±2,1	21	18,4±3,6
р. Enterococcus spp.	6	2,0±0,6	0	0	0	0

сем. Enterobacteriaceae	3	1,0±0,4	13	9,9±2,2	8	7,0±2,4
р. Heamophilus spp.	7	2,3±1,5	1	0,8±0,1	2	0,9±0,1
р. Moraxella spp.	0	0	0	0	0	0
р. Staphylococcus spp.	30	10,1±1,3	23	6±2,1	22	19,3±3,7
р. Streptococcus spp.	91	30,5±2,0	25	17,6±3,3	39	34,2±4,4
р. Rothia spp.	74	24,8±1,8	9	6,9±2,2	2	0,9±0,1
Другие микроорганизмы	26	8,7±1,2	18	42,2±4,3	12	10,5±2,9

Из 543 штаммов бактерий 155 (28,5±1,9%) изолятов относились к 11 видам рода *Streptococcus spp.*. Штаммы *S. salivarius* – 13,0±1,5%; *S. oralis*– 7,0±1,3%; *S. mitis*– 5,0±1,1%; *S. parasanguinis* – 3,0±3,1%; *S. anginosus* – 2,5±1,8%, *S.pneumoniae* -1,3%±0,2%. Были выявлены 114 культур дрожжеподобных грибов *р. Candida spp.* -21,0±1,7%. Обнаружены в порядке убывания: *C. albicans* – 59,0±1,5%, *C. krusei* – 17,0±1,2%, *C. lustaniae* и *C. glabrata* – 7,0±2,5%. Микроорганизмы *р. Rothia spp.* составляли 15, 6±1,4% от общего количества выделенных штаммов. Из мокроты больных было выделено 75 культур рода *Staphylococcus spp*., что составило 13,8±1,5%. Представители семейства *Enterobacteriaceae* были выделены из мокроты в 4,4±0,9% от общего количества выделенных микроорганизмов. Из биоматериала данной категории больных было выделено 2 штамма НГОБ – 0,4±0,2%: *A. baumannii*- 0,2±0,1%, и *P. aeruginosa* - 0,2±0,1%.

В группе выделенных микроорганизмов основная доля приходилась на грамположительную флору, представленную бактериями *р. Streptococcus spp.,* что согласуется с данными многих зарубежных и российских исследований [24]. По данным Козлова с соавторами [25] стрептококки вызывают около 20% случаев инфекционных обострений хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), в то время как в данном исследовании этот показатель составил в «доковидный» период 15,3%, в период пандемии 28,5%. Однако, годовые проценты выделения *S. pneumoniae* сильно варьируют. Если в «доковидный» период основным возбудителем ВП являлись дрожжеподобные грибы *р. Candida spp*. (23,0% из 557 культур), то с 2020 года этот возбудитель встречался реже и на его долю приходилось 21,0% из 114 выделенных культур. По данным литературных источниках *Candida spp*. не являются возбудителем пневмоний, но эта флора как в составе микробных ассоциаций и как моноинфекция удлиняет течение болезни (с учетом появления устойчивости к противогрибковым препаратам и склонностью к формированию биопленок), ухудшая прогноз заболевания [26].

В период пандемии COVID-19 увеличился процент выделения бактерий рода *Staphylococcus spp.* до 13,8% по сравнению с доковидный периодом, где процент выделения составил 6,3% ($p<0,05$). На долю *сем. Enterobacteriaceae* пришлось 17,9% культур в основной

группе, в то время как в группе сравнения она встречалась в 13,2% случаев (p<0,05). Относительно уменьшилась доля НГОБ с 11,2% в «доковидный» период до 0,9% в 2020-2022 годы (p<0,05). Согласно данным российских исследователей одним из ведущих возбудителем ХОБЛ является гемофильная палочка. На ее долю приходится не менее 30% от общего числа всех инфекционнозависимых обострений ХОБЛ [27,28]. В период с 2020- 2022 гг. регистрируется рост *Haemophilus spp*. с 0,2% в «доковидный» период до 1,8% (p<0,05). В странах Западной Европы и США *p. Moraxella spp.* является причиной 13% инфекционных обострений ХОБЛ, по данным российских исследований этот показатель не превышает 1% [29], такие же значения получены для пациентов с ВП с 2017- 2022 гг. соответственно.

Изучение видового состава грамотрицательных и грамположительных бактерий, которые были выделены в течение 5 лет, показало, что преобладающими микроорганизмами среди грамотрицательных бактерий были: *E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae, Acinetobacter spp.,* грамположительных - *p. Staphylococcus spp., p. Streptococcus spp.* В работе проанализирована резистентность клинических штаммов основных этиологически значимых видов бактерий за период наблюдения (2018 - 2022 гг.) к шести группам антибиотиков: фторхинолонам II поколения, аминогликозидам, макролидам, цефалоспоринам III поколения, карбапенемам; к полусинтетическим пенициллинам II поколения - диаграмма 1.

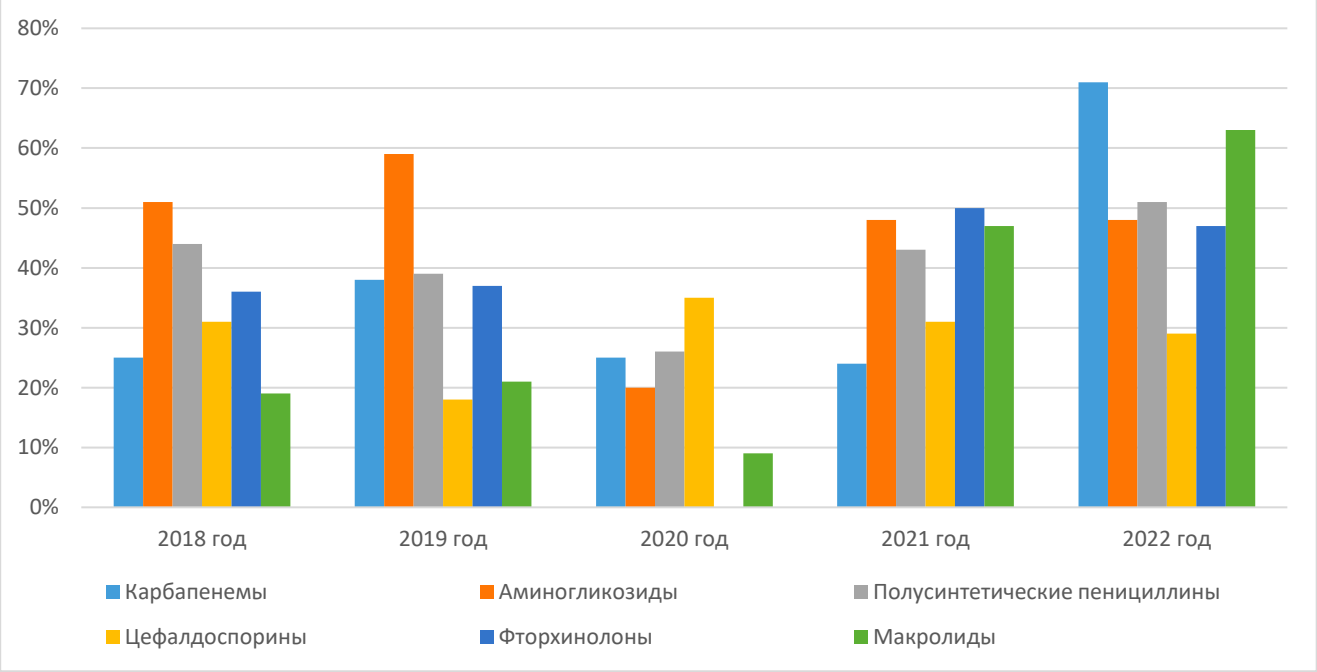


Диаграмма 1. Антибиотикорезистентность штаммов, выделенных из мокроты больных ВП

По данным литературы с 2018 года наметилась тенденция роста резистентности внебольничных штаммов микроорганизмов у больных МО: рост резистентности пневмококка к бета-лактамным антимикробным препаратам, макролидам, тетрациклинам, сульфаниламидам; увеличение

резистентности *S. aureus* к макролидам, высокий процент штаммов золотистого стафилококка, продуцирующих пенициллиназу; постепенное повышение резистентности синегнойной палочки к цефалоспоринам 3–4-го поколения [30]. В нашем исследовании при сравнении динамики антибиотикорезистентности установлено, что с 2018 года произошел рост устойчивости микроорганизмов по отношению к карбапенемам с 25% в 2018 г. до 71% 2022 году, фторхинолонам II с 36% в 2018 г. и 47% в 2022, полусинтетическим пенициллинам II поколения 44% и 51% в 2022 году, макролидам 19% и 63 соответственно. Рост антибиотикорезистентности возбудителей, выделенных от больных в период пандемии COVID-19, отмечается по всему миру и имеет ряд прямых и косвенных причин [4, 23]. Также отмечается динамика снижения резистентность культур к аминогликозидам с 51% в 2018 г. и 48% в 2022 г., цефалоспоринам III порядка с 31% в 2018 г. до 29% в 2022 году.

Заключение

Для больных с коронавирусной инфекцией, с присоединением бактериальных осложнений, необходимо учитывать преобладание в этиологической структуре поражения нижних дыхательных путей грамотрицательных бактерий, высокий риск присоединения грибковой флоры и активации других условно-патогенных возбудителей. Сравнительный анализ микробного пейзажа мокроты пациентов с ВП в период пандемии коронавирусной инфекции и в «доковидный» период позволяет сделать следующий вывод: основными микробными возбудителями ВП «доковидного» периода в нашем регионе являются дрожжеподобные грибы *p. Candida spp., p. Streptococcus spp.* и представители бактерий семейства *Enterobacteriaceae.* У больных ВП в период пандемии коронавирусной инфекции, также отмечается преобладание грамположительных бактерий *p. Streptococcus spp. и p. Staphylococcus spp.* В ходе проведенного исследования была показана значимая роль дрожжеподобных грибов рода *Candida spp*. в развитии ВП. Наблюдаемый рост антибиотикорезистентности отражает результат активного применения антибиотиков на догоспитальном этапе лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. 1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И. с соавт. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике: пособие для врачей; М., 2010. 106 с.
2. Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш., Зарипова А.З., Патяшина М.А., Авдонина Л.Г., Юзлибаева Л.Р. Внебольничные пневмонии пневмококковой этиологии и микробиологические аспекты назофарингеального носительства Streptococcus pneumoniae в республике Татарстан. Инфекции и иммунитет. 2017. 7(3):271-278.
3. Brun-Busson Ch. Des germes si ordinaires. Le recherché. 1994. 25:706- 709. Avaible at: http:www.cdc.gov/hai/statessummary.html
4. Zhu X., Ge Y., Wu T., Zhao K. et. all. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases // Virus Res. 2020; 285:198005. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Coinfections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // J. Infect. 2020; 81(2): 266-275.
5. Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V. et. all. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis // Clin. Microbiol. Infect. 2020; 26(12): 1622–1629. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.016.
6. Garcia-Vidal C., Sanjuan G., Moreno-García E., Puerta-Alcalde P. et. all. COVID-19 Researchers Group. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study // Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27(1): 83–88. DOI:10.1016/j.cmi.2020.07.041.
7. Mahmoudi H. Bacterial co–infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19 // GMS HygInfect Control. 2020 Dec 17;15: Doc35. DOI: 10.3205/dgkh000370. Fattorini L., Creti R., Palma C., Pantosti A.; Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens; Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens of the Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome. Bacterial coinfections in COVID–19: an underestimated adversary // Ann. Ist. Super Sanita. 2020; 56(3): 359–364.
8. Manohar P., Loh B., Nachimuthu R., Hua X. et. all. Secondary Bacterial Infections in Patients With Viral Pneumonia // Front.Med. (Lausanne). 2020; 7: 420. Hughes S., Troise O., Donaldson H., Mughal N. et. all. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting // Clin. Microbiol. Infect. 2020; 26(10): 1395–1399.
9. Lai C.C., Yu W.L. COVID-19 associated with pulmonary aspergillosis: A literature review // Microbiol. Immunol. Infect. 2021; 54(1): 46–53. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.09.004.

10. Chen X., Liao B., Cheng L., Peng X. et. all .The microbial coinfection in COVID-19 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2020; 104(18): 7777–7785. DOI: 10.1007/s00253-020-10814-6.
11. Youngs J., Wyncoll D., Hopkins P., Arnold A. et. all. Improving antibiotic stewardship in COVID-19: Bacterial co-infection is less common than with infl uenza // Infect. 2020; 81(3): e55–e57. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.06.056.
12. Munch M.W., Meyhoff T.S., Helleberg M., Kjaer M.N. et. all. Lowdose hydrocortisone in patients with COVID-19 and severe hypoxia: the COVID STEROID randomised, placebo-controlled trial // Acta. Anaesthesiol. Scand. 2021. DOI: 10.1111/aas.13941.
13. Falavigna M., Colpani V., Stein C., Azevedo C. et. all. Guidelines for the pharmacological treatment of COVID–19. The task–force/consensus guideline of the Brazilian Association of Intensive Care Medicine, the Brazilian Society of Infectious Diseases and the Brazilian Society of Pulmonology and Tisiology // Rev. Bras. Ter. Intensiva. 2020; 32(2): 166–196. DOI: 10.5935/0103-507x.20200039.
14. Rawson T.M., Moore L.S.P., Zhu N., Ranganathan N. et. all. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing // Clin. Infect. Dis. 2020; 71(9): 2459–2468. DOI: 10.1093/cid/ciaa530.
15. М.Г. Авдеева, М.И. Кулбужева, С.В. Зотов, Е.В. Журавлева и др. Микробный пейзаж у госпитальных больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19.Кубанский научный медицинский вестник // Kuban Scientifi c Medical Bulletin 2021. Том 28. № 5. С. 14–28. doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-5-14-28.
16. Mirzaei R., Goodarzi P., Asadi M., Soltani A., Aljanabi H.A.A. et. all. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. IUBMB Life. 2020; 72(10): 2097–2111. DOI: 10.1002/iub.2356.
17. Sultana J., Cutroneo P.M., Crisafulli S., Puglisi G. et. all. Azithromycin in COVID-19 Patients: Pharmacological Mechanism, Clinical Evidence and Prescribing Guidelines. Drug. Saf. 2020; 43(8): 691–698. DOI: 10.1007/s40264-020-00976-7.
18. Rawson T.M., Wilson R.C., Holmes A. Understanding the role of bacterial and fungal infection in COVID-19 // Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27(1): 9–11.
19. Твердохлебова Т.И., Алешукина А.В., Суладзе А.Г., Рындич А.А и др. Деятельность ФБУН РОСТОВНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора в период пандемии COVID-19// Главврач Юга России 2021; 1(76):4-8.
20. Клинические рекомендации. Внебольничная пневмония у взрослых МКБ 10: J13-J18. М.: Российское респираторное общество. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии; 2019. 98 с.
21. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III- IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

22. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К. и др. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций 2020; (4): 99-105. Методические указания. МУ 1.3.2569-09. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2010. 51с.
23. Дворецкий Л.И. Ключевые вопросы антибактериальной терапии обострений хронической обструктивной болезни легких// Пульмонология. 2011. №4.С.87-96.
24. Катаева Л.В., Вакарина А.А., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б. Микробиота нижних дыхательных путей при внебольничных пневмониях, в том числе ассоциированных с SARS-CoV-2 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии 2021; 98(5): 528-537.
25. Козлов Р.С. Принципы антибактериальной терапии при инфекционном обострении ХОБЛ с позиций доказательной медицины// Пульмонология. Аллергология. Риноларингология. 2009. №2. С.27.
26. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Котова В.О. и др. Характеристика бактериальной микрофлоры, выделенной из проб мокроты больных пневмонией в Хабаровске и Хабаровском крае в начальный период пандемии COVID-19 (май–июнь 2020 г.) // Проблемы особо опасных инфекций 2020; (3): 43–49.
27. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких. // Пер. с англ. под.ред. Чучалина А.Г. Атмосфера. Москва.2003. – 96с.
28. Veeramachaneni S.B., Sethi S. Pathogenesis of bacterial exacerbations of COPD// COPD. 2006. N.3. P.109–115.
29. Авдеев С.Н. Антибактериальная терапия при обострении хронической обструктивной болезни легких// Пульмонология. 2010. №2. С.96-106.
30. Avdeeva M.G., Shubina G.V., Ganzha A.A., Zhuravleva E.V. Community acquired pneumonia in infectious hospital patients: the development of resistance to antimicrobials // Epidemiology and Infectious Diseases 2018; 23(3): 108–113.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ *BETAPOLYOMAVIRUS HOMINIS* В ГРУППАХ РИСКА ПО РАЗВИТИЮ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ. РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Д.Р. Прилепская [1], Э.А. Домонова [1], А.А. Попова [1], М.Ю. Дроков [2]

[1]ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

[2]ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва, Россия

Betapolyomavirus hominis относится к семейству *Polyomaviridae* и представляет собой вирус без оболочки с икосаэдрическим капсидом, окружающим кольцевой двухцепочечный геном, состоящий примерно из 5000 пар оснований. *B.hominis* патогенен для человека, основной путь передачи – воздушно-капельный. Вирус распространен по всему миру, в зависимости от изучаемой популяции вирусоспецифические антитела обнаруживаются более чем у 80% населения [1].

В большинстве случаев при первичном инфицировании *B.hominis* развивается воспалительный процесс в тканях миндалин, после которого вирус персистирует в клетках почек, В-клетках, головном мозге и селезенке в латентном состоянии [2]. Последующая реактивация вируса возможна у пациентов с ослабленным иммунитетом, больных сахарным диабетом, беременных и лиц старших возрастных групп. Клинические последствия реактивации *B.hominis* возникают при иммунодефицитных состояниях, в том числе обусловленных проведением иммуносупрессивной терапии. К группам риска относятся: ВИЧ-инфицированные, онкологические больные, реципиенты гемопоэтических стволовых клеток, реципиенты почки [3]. Если обнаружение вируса в моче беременных женщин и лиц, больных сахарным диабетом, не связано с неблагоприятными исходами, то реактивация вируса у реципиентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток может приводить к геморрагическому циститу и нефриту, после трансплантации почки – к почечной дисфункции в виде нефропатии, ассоциированной с *B.hominis*, с последующим отторжением трансплантата [4].

На сегодняшний момент в Российской Федерации данных по распространенности *B.hominis* среди групп риска по развитию инфекционных осложнений, обусловленных его реактивацией, накоплено недостаточно.

Цель: анализ распространенности *Betapolyomavirus hominis* среди групп риска по развитию инфекционных осложнений, обусловленных его реактивацией.

Материалы и методы

В проспективное исследование включено 329 пациентов, находящихся на стационарном лечении в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ и диспансерном наблюдении по поводу ВИЧ-

инфекции в СНИОПБ СПИД ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Исследование проведено в соответствии с законодательством РФ, международными этическими нормами и нормативными документами ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора при наличии письменного согласия пациентов в период с мая 2017 года по январь 2024 года.

Все обследованные (n=329) разделены на 5 групп. Первую и вторую группу составили пациенты после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Первая группа – реципиенты с установленным геморрагическим циститом, вторая – реципиенты без клинических признаков геморрагического цистита. Третья группа – реципиенты аллогенной почки, четвертая – лица с положительным ВИЧ-статусом, пятая – условно-здоровые мужчины и женщины без клинических проявлений инфекционного заболевания (популяционный контроль). Гендерно-возрастная характеристика обследованных представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов различных групп

Параметр		Группа				
		1	2	3	4	5
		реципиенты с ГЦ после алло-ТГСК	реципиенты без ГЦ после алло-ТГСК	реципиенты аллогенной почки	лица с положительным ВИЧ-статусом	популяционный контроль
Количество пациентов (n=329), абс.		111	38	58	47*	75
Гендерная характеристика	женщины, абс. (%)	51 (46)	23 (61)	16 (31)	11 (23)	38 (51)
	мужчины, абс. (%)	60 (54)	15 (39)	35 (69)	36 (77)	37 (49)
Возраст (min–max), лет		19–63	19–59	21–70	18–58	19–58
Средний возраст, лет		40	36	44	36	36
Медиана возраста, лет		38	37	43	36	35
Медиана срока после трансплантации, дни (min–max)		48 (6–342)	29 (1–170)	124 (1–5625)	–	–
Исследовано образцов цельной венозной крови (n=315)		97	38	58	47	75
Исследовано образцов мочи (n=322)		111	38	51	47	75

Примечание – ГЦ – геморрагический цистит (наличие геморрагического цистита оценивали в соответствии с критериями, предложенными M.J. Droller с соавт. (1982 г.) [5]), алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; «–» – трансплантация не проводилась, * – 30/47 (63,83%) пациентов на момент лабораторного исследования принимали антиретровирусную терапию

У каждого пациента исследовали два вида биологического материала: цельную венозную кровь и мочу. Взятие, транспортировку, хранение и предварительную обработку биологического материала осуществляли согласно методическим рекомендациям ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора [6].

ДНК *B.hominis* в образцах цельной венозной крови (n=315) и мочи (n=322) количественно определяли с помощью методики, основанной на ПЦР-РВ, в качестве специфической мишени которой выбраны гены, кодирующие большой Т-антиген (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ). Аналитическая чувствительность – 300 (объем экстракции 100–200 мкл) и 100 (объем экстракции 1000 мкл) копий ДНК/мл. Диапазон измерения – 10^3–10^7 копий ДНК/мл. Аналитическая специфичность – 100%. Экстракцию ДНК осуществляли с использованием комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 6 августа 2021 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Постановка и анализ результатов амплификации проводился на приборе «Rotor-Gene Q» («Qiagen GmbH», Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты исследования были обработаны с помощью онлайн-сервиса для статистической обработки данных медицинских исследований STATTECH (ООО «Статтех», Россия). Оценка статистической значимости различий между группами по качественным признакам проводилась при помощи расчета и оценки критерия Хи – квадрат Пирсона. Различия считали достоверными при $p<0,05$. С целью оценки силы взаимосвязи использовался уточняющий симметрический критерий V Крамера. Для оценки влияния факторов использовали методику, основанную на расчете отношения шансов (OR).

Результаты

В ходе проведенного исследования в цельной венозной крови ДНК *B.hominis* выявлена только у пациентов первых двух групп (рисунок 1).

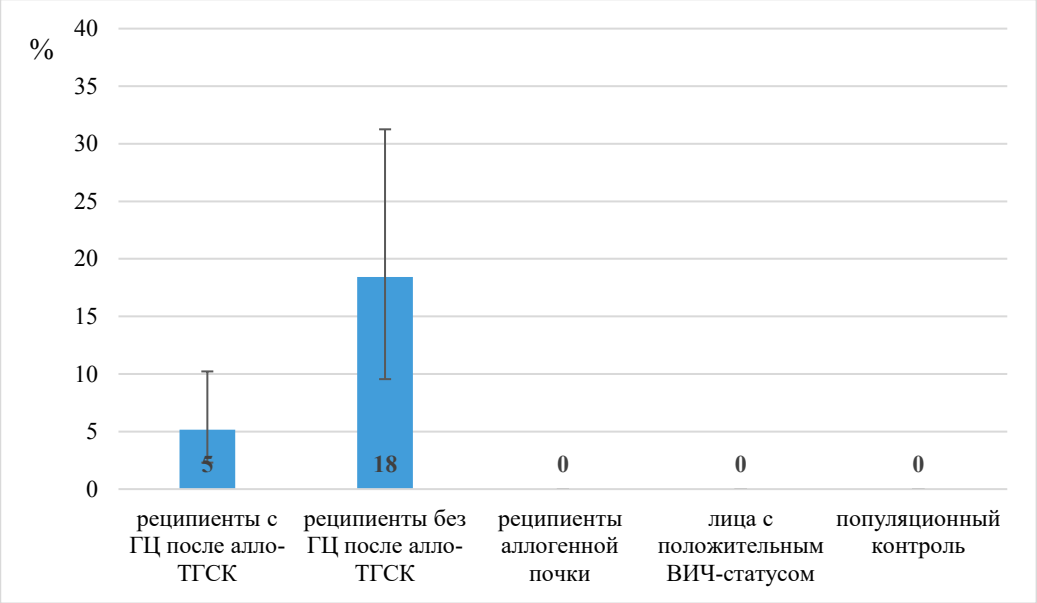


Рисунок 1. Частота выявления ДНК *B.hominis* в крови пациентов различных групп

В первой группе (реципиенты с ГЦ после алло-ТГСК) виремия обнаружена у 5/97 (5,2%; 95% ДИ 2,2–11,5) обследованных в концентрации от 8,0x10^2 до 3,3x10^3 копий/мл (M=1,8x10^3 копий/мл, *Me*=1,8x10^3 копий/мл); во второй группе (реципиенты без ГЦ после алло-ТГСК) – 7/38 (18,4%; 95% ДИ 9,2–33,4) в концентрации от 4,0x10^2 до 3,0x10^3 копий/мл (M=1,3x10^3 копий/мл, *Me*=1,2x10^3 копий/мл).

ДНК *B.hominis* обнаружена в образцах мочи пациентов всех исследуемых групп. При этом частота выявления варьировала от 5 до 93 % (рисунок 2).

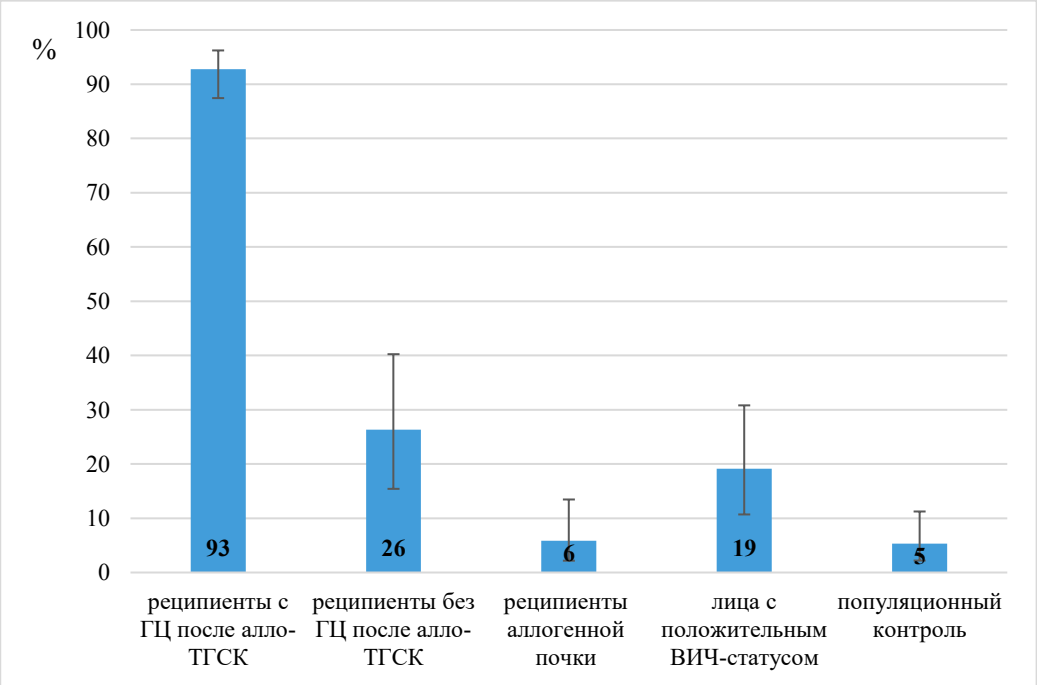


Рисунок 2 Частота выявления ДНК *B.hominis* в моче пациентов различных групп

В группе реципиентов с ГЦ после алло-ТГСК вирурия (первая группа) обнаружена у 103/111 (92,8%; 95% ДИ 86,4–96,3) обследованных в концентрации от 3,8x10^3 до 4,0x10^11 копий/мл (M=1,6x10^10 копий/мл, *Me*=1,1x10^9 копий/мл); у реципиентов без ГЦ после алло-ТГСК (вторая группа) у 10/38 (26,3%; 95% ДИ 15,0–42,0) в концентрации от 7,0x10^2 до 7,3x10^10 копий/мл (M=8,7x10^9 копий/мл, *Me*=1,2x10^8 копий/мл); у 3/51 (5,9%; 95% ДИ 2,0–15,9) реципиентов аллогенной почки (третья группа) в концентрации 4,0x10^2; 5,7x10^4 и 2,3x10^5 копий/мл; в группе лиц с положительным ВИЧ-статусом (четвертая группа) у 9/47 (19,1%; 95% ДИ 10,4–32,5) пациентов в концентрации от 4,0x10^2 до 1,9x10^7 копий/мл (M=2,2x10^6 копий/мл, *Me*=8,7x10^3 копий/мл); в группе сравнения (пятая группа) 4/75 (5,3%; 95% ДИ 2,1–12,9) в концентрации от 8,0x10^2 до 5,2x10^3 копий/мл (M=2,2x10^3 копий/мл, *Me*=1,3x10^3 копий/мл).

При этом одновременное обнаружение ДНК *B.hominis* в обоих видах исследованного биологического материала наблюдалась в группе реципиентов с ГЦ после алло-ТГСК у 5 пациентов, в группе реципиентов без ГЦ после алло-ТГСК – у троих. Распространенность *B.hominis* среди пациентов различных групп вне зависимости от вида исследованного биологического материала представлена на рисунке 3.

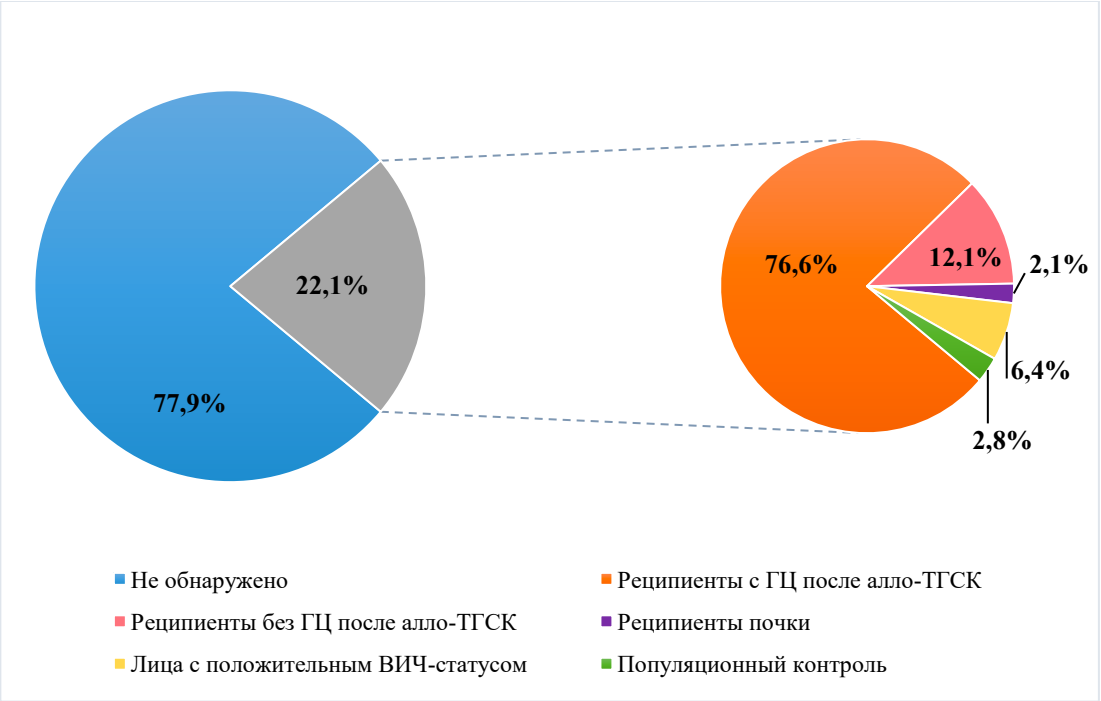


Рисунок 3. Распространенность *B.hominis* среди пациентов различных групп

Сопоставление частот обнаружения *B.hominis* в образцах мочи в зависимости от наличия у пациентов факторов риска представлено в таблице 2.

Таблица 2. Сравнение частоты обнаружения ДНК *B.hominis* в образцах мочи в зависимости от факторов риска

Фактор риска		Обнаружение ДНК *B.hominis* в образцах мочи, абс. (%)	*p*	OR; 95% ДИ
ГЦ после алло-ТГСК	наличие (n=111)	103 (92,8)	<0,001	228,5; 66,3–787,9
	отсутствие (n=75)	4 (5,3)		
алло-ТГСК	наличие (n=38)	10 (26,3)	0,002	6,3; 1,8–21,9
	отсутствие (n=75)	4 (5,3)		
трансплантация аллогенной почки	наличие (n=51)	3 (5,9)	0,895*	1,1; 0,2–5,2
	отсутствие (n=75)	4 (5,3)		
ВИЧ-статус	наличие (n=47)	9 (19,1)	0,017	4,2; 1,2–14,6
	отсутствие (n=75)	4 (5,3)		
Примечание – большой срок после трансплантации выступает ограничением исследования (минимальное количество дней после трансплантации составило 1, максимальное – 5625, M=346,7; *Me*=124,0)				

В соответствии с полученными данными, частота обнаружения ДНК *B.hominis* в образцах мочи была статистически значимо выше в группе реципиентов с ГЦ после алло-ТГСК по сравнению с группой популяционного контроля (p<0,001). Шанс обнаружения ДНК *B.hominis* в образцах мочи у реципиентов с ГЦ после алло-ТГСК в 228,5 раз выше, чем в группе сравнения (95% ДИ: 66,3–787,9). Связь между описанными выше признаками очень сильная (V = 0,868).

Частота обнаружения ДНК *B.hominis* в образцах мочи в зависимости от проведения трансплантации аллогенной почки статистически значимых различий с группой популяционного контроля не имела (p=0,895). Однако, на данный показатель могла оказать влияние длительность срока после трансплантации.

Выводы

Таким образом, частота встречаемости *B.hominis* среди пациентов первых двух групп, перенесших алло-ТГСК, в обоих видах биологического материала составила в первой группе 51,9% (108/208, 95% ДИ 45,2–58,6), во второй – 22,4% (17/76, 95% ДИ: 14,5–32,9). В указанных двух группах установлена самая высокая частота встречаемости вируса в образцах мочи (92,8% и 26,3% соответственно), характеризующаяся высоким уровнем концентрации ДНК. Распространенность *B.hominis* в группе реципиентов почки составила 5,9%, в группе лиц с положительным ВИЧ-статусом – 19,1%. В группе сравнения вирурия отмечалась реже (5,3%), чем в остальных группах и с меньшей концентрацией ДНК вируса. Полученные данные по частоте выявления вируса в различных биологических средах, уровню вирусной нагрузки,

являющейся важным критерием оценки активности развития инфекционного процесса, необходимы при формировании алгоритма обследования пациентов из групп риска.

Благодарности: Генеральному директору ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, главному внештатному специалисту гематологу Минздрава России, д.м.н. Елене Николаевне Паровичниковой, врачу-гематологу ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России Инаре Санджаровне Сайдуллаевой, научному сотруднику ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора Ольге Юрьевне Сильвейстровой за помощь в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1 Blackard J. T., Davies S. M., Laskin B. L. BK polyomavirus diversity—why viral variation matters. Reviews in medical virology. 2020; 30(4): e2102.

2 Ambalathingal G. R., Francis R. S., Smyth M. J. et al. BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies // Clinical microbiology reviews. – 2017. – Т. 30, N 2 – P. 503-528.

3 Furmaga J., Kowalczyk M., Zapolski T. et al. BK Polyomavirus—Biology, Genomic Variation and Diagnosis // Viruses – 2021. – Т. 13, N 8 – P. 1502

4 Kato J., Mori T., Suzuki T. et al. Nosocomial BK polyomavirus infection causing hemorrhagic cystitis among patients with hematological malignancies after hematopoietic stem cell transplantation // American Journal of Transplantation – 2017. – Т. 17. – P. 2428–2433.

5 Droller M.J., Saral R., Santos G. Prevention of cyclophosphamideinduced hemorrhagic cystitis. Urology. 1982;20(3):256-258.

6 Домонова Э. А., Творогова М. Г., Подколзин А. Т. с соавт. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики. – М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. – 112 с.

АНТРОПОЗООНОЗНЫЕ ПАРАЗИТЫ СОБАК И КОШЕК ГОРОДА ВЛАДИВОСТОКА

Т.В. Табакаева, М.Ю. Щелканов

Институт Эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзор

Паразитарные инвазии синантропных плотоядных – собак и кошек имеют повсеместное распространение. В условиях городской среды контакт человека с собаками и кошками становится более тесным, что и обусловливает массовое распространения паразитарных заболеваний среди населения, вызываемых зоонозными видами паразитов, таких как *Toxocara* spp., *Toxascaris leonina*, *Uncinaria stenocephala*, *Taenia* spp. и др. [1-3].

В целях поддержания здоровья населения и обеспечения биологической безопасности, необходимо проводить мониторинговые исследования по распространению инвазий не только среди населения, но и среди домашних животных [1,2]. Изучение видового состава гельминтов собак и кошек, показателей зараженности ими особей разного возраста, пола и породы, а также изучение динамики показателей зараженности в разные сезоны года необходимо для выявления эколого-биологических факторов, влияющих на формирование паразитофауны, а также прогнозирования эпизоотологической ситуации в целом.

Целью исследования – являлось изучение паразитофауны собак и кошек гор. Владивостока.

Для определения видового состава гельминтов и показателей зараженности ими собак и кошек было проведено полное паразитологическое вскрытие по К.И. Скрябину [4] 27 собак и 31 особи домашней кошки. Возрастная структура животных состояла из 5 щенков (до 1 года), 14 собак возраста от 1 года до 3 лет и 8 собак старше 3 лет. Половая структура собак включала 11 самок и 16 самцов.

Возрастная структура кошек, была представлена 9 котятами (возраста до 1 года), 11 особями возраста от 1 года до 3 лет и 10 особями старше 3 лет. Половая структура кошек включала 18 самок и 13 самцов.

В ходе исследования, у 11 собак (ЭИ 40,7%) были обнаружены гельминты, средняя ИИ составила -14,3±8,4 экз. Были определены показатели зараженности (ЭИ и ИИ) собак разного возраста, пола, породы, а также показатели зараженности в разные сезоны года, данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние различных факторов на зараженность собак гельминтамив урбанизированной экосистеме гор. Владивостока (P<0,05)

Фактор		Всего исследовано	ЭИ % (Число положительных)	ИИ Экз.
Возраст	1-12 месяцев	5	60% (n=3)	10-32 (23,5±9,3)
	12-36 месяцев	14	66,7% (n=14)	5-21 (15,1±6,4)
	старше 3 лет	8	25% (n=2)	7-11 (12,5)
Пол	самки	16	31,3% (n=5)	5-32 (13±10,1)
	самцы	11	54,5% (n=6)	7-21 (15,2±6,8)
Порода	породные	8	37,5% (n=3)	5-9 (7±2,8)
	метисы	19	42,1% (n=8)	8-32 (17±7,8)
Сезон	весна	4	25% (n=1)	10
	лето	11	27,3% (n=3)	7-21 (15,3±7,8)
	осень	9	55,6% (n=5)	8-32 (17,2±10,3)
	зима	7	28,6% (n=2)	5-9 (7±2,8)
Всего		27	40,7 (n=11)	5-32 (14,3±8,4)

Согласно данным, представленным в таблице 1, на основании проведенных паразитологических вскрытий, гельминты были найдены у 40,7% собак со средней ИИ 14,3±8,4 экз. Щенки были наиболее предрасположены к заражению гельминтами, ЭИ в этой возрастной группе составила 60%, а средняя ИИ 23,5±9,3 экз., что существенно выше, чем в других возрастных группах. Показатели зараженности самцов, также были выше, чем самок, ЭИ составила 54,5%, средняя ИИ 15,2±6,8 экз. Среди вскрытых собак зараженность была выше у беспородных особей.

Беспородные особи заражались гельминтами чаще, чем породные и имели более высокие показатели зараженности: в группе беспородных собак ЭИ составила 42,1%, средняя ИИ 17±7,8 экз. Интерес представляют данные по сезонной динамике показателей зараженности собак гельминтами в урбанизированной экосистеме гор. Владивостока. Самые высокие показатели зараженности были отмечены в осенний период, ЭИ составила 55,6%, средняя ИИ 17,2±10,3 экз. Минимальные показатели зараженности были отмечены весной, ЭИ 25%, ИИ 10 экз. Наименьшая средняя ИИ выявлена в зимний период (7±2,8 экз.). Видовой состав гельминтов домашних собак представлен в таблице 2.

Таблица 2. Видовой состав эндопаразитов собак и показатели зараженности эндопаразитами в гор. Владивостока (результаты паразитологического вскрытия)

Вид	Число положительных	ЭИ, %	ИИ экз.
Ancylostoma caninum	4	14,8	5-32 (12,5±8,2)
Toxocara canis	6	22,2	5-24 (13,8±10,5)
Uncinaria stenocephala	3	11,1	5-9 (7±1,6)
Toxascsaris leonina	2	7,4	4-7 (5,5±2,1)
Trichuris vulpis	1	3,7	3
Dirofilaria immitis	1	3,7	10
Dipylidium caninum	3	11.1	2-8 (4,8 2,8)
Taenia hydatigena	1	3,7	3

Видовая структура гельминтов домашних собак в урбанизированной среде гор. Владивостока была представлена 8 видами гельминтов, доминирующим видов являлись нематоды *Toxocara canis*, ЭИ составила 14,8%, средняя ИИ 13,8±10,5 экз. Следующими по распространенности являлись нематоды *A. caninum*, ЭИ составила 14,8%. Единично встречались виды: *T. vulpis*, *D. immitis*, *T, hydatigena*. Часто регистрировались миксинвазии: *T. canis+U. stenocephala* (ЭИ 7,4%), *A. caninum+D. caninum* (ЭИ 7,4%), *T. leonina+D. caninum* (ЭИ 7,4%), *A. caninum+T. hydatigena* (ЭИ 3,7%), *T. canis+T. vulpis* (ЭИ 3,7%), *T. canis+ T. leonina* (ЭИ 3,7%). Гельминты *T. canis, D. caninum. T. leonina, U. stenocephala, T, hydatigena* являются антропозоонозными.

Показатели ЭИ и ИИ кошек разного возраста, пола, породы и в разные сезоны года представлены в таблице 3.

Таблица 3. Показатели зараженности кошек гельминтами в зависимости от экологического фактора (P<0,05)

Фактор		Число исследованных	Число зараженных (ЭИ, %)	ИИ экз.
Возраст	1-12 месяцев	9	5 (55,6%)	5-21 (11,3±4,8)
	12-36 месяцев	11	2 (18,2%)	6-11 (8,5±3,5)
	старше 3 лет	10	2 (20%)	4-9 (6,5±3,5)
Пол	самки	18	4 (22,2%)	9-11 (7,3±4,3)
	самцы	13	5 (38,4%)	8-21 (14,4±4,9)
Порода	породные	6	2 (33,3%)	5-9 (7±2,8)
	метисы	25	7 (28%)	4-21 (11,6±5,6)

Сезон	весна	7	2 (28,6%)	4-9 (6,5±3,5)
	лето	9	2 (22,2%)	11-17 (14±4,2)
	осень	11	3 (27,3%)	8-21 (13,7±6,7)
	зима	4	2 (50%)	6-14 (14±6,7)
Общее		31	9 (29%)	4-21 (11,3±5,4)

Общая зараженность кошек составила 29%, а средний показатель ИИ 11,3±5,4 экз. Показатели зараженности котят были выше, чем в других возрастных группах, ЭИ составила 55,6%, средний показатель ИИ 11,3±4,7 экз. Самцы также заражались чаще самок, ЭИ самцов составила 38,4%, средняя ИИ 14,4±4,9 экз. Несмотря на то, что выборка беспородных (метисов) кошек, была существенно больше породной, ЭИ породных кошек была выше чем беспородных и составила 33,3%. Напротив, средняя ИИ была выше у беспородных кошек и составила 11,6±5,6 экз. Показатели зараженности гельминтами кошек также различались в разные сезоны года. Наиболее высокий показатель ЭИ отмечен в осенний период (27,3%), самый низкий показатель ЭИ был зарегистрирован в летний период (22,2%). Наименьшая средняя ИИ отмечена в весенний период (6,5±3,5 экз.), а наиболее высокий показатель наблюдался в зимнее время (14±3,7). Это связано с тем, что заражение животных происходит главным образом, в теплое время года, и для того, чтобы гельминтам пройти стадии развития от личинки до марины требуется порядка 2 месяцев, в зависимости от вида гельминта. В таком случае, в осенне-зимний периоды гельминты достигают зрелости, чем и обусловлены высокие показатели зараженности. Видовая структура гельминтофауны домашних кошек и показатели зараженности их гельминтами в гор. Владивостоке представлены в таблице 4.

Таблица 4. Видовой состав и зараженность гельминтами домашних кошек в урбанизированной экосистеме гор. Владивостока на основании паразитологических вскрытий

Вид	Всего заражено	ЭИ, %	ИИ, экз.
Toxocara cati	5	16,1	4-21 (10±6,7)
Toxascaris leonina	2	6,5	3-6 (14,5±2,1)
Uncinaria stenocephala	1	3,2	5
Dipylidium caninum	2	6,5	4-6 (5±1,4)
Taenia taeniaeformis	3	9,7	4-9 (7±2,6)
Metagonimus sp.	1	3,2	11

Гельминтофауна домашней кошки, на основании паразитологических вскрытий была представлена 6 видами паразитов, из которых доминировали нематоды *T. cati*, ЭИ которыми составила 16,1%, средняя ИИ 10±6,7 экз. Следующим по распространенности являлись цестоды

T. taeniaeformis, ЭИ составила 9,7%, средняя ИИ 7±2,6 экз. Реже всего встречались нематоды *U. stenocephala* с ИИ 5 экз. и трематоды рода *Metagonimus* sp. с ИИ 3,2 экз. Также регистрировались следующие микс-инвазии*: T.cati+D. caninum* (ЭИ 6,5%), *T. cati+T.leonina* (ЭИ 3,2%), *T. cati + T. taeniaeformis* (ЭИ 3,2%), *T. taeniaeformis+Metagonimus* sp. (ЭИ 3,2%). Такие виды как, *T.cati, U. Stenocephala. D. caninum, Metagonimus* sp. – являются антропозоонозными.

Заключение

Результаты исследования показали, что собаки и кошки гор.Владивостока массово заражены гельминтами, многие виды из которых, являются антропозоонозными, т.е. представляют опасность для человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубов А. В. Возрастная динамика зараженности собак кишечными паразитами в центральной зоне России //Российский паразитологический журнал. – 2008. – №. 2. – С. 45-47.
2. Сафаров А. А. и др. Паразитофауна домашней собаки (Canis familiaris Dom.) современного мегаполиса Ташкента //Российский паразитологический журнал. – 2018. – Т. 12. – №. 4. – С. 41-49.
3. Baneth G. et al. Major parasitic zoonoses associated with dogs and cats in Europe //Journal of comparative pathology. – 2016. – Т. 155. – №. 1. – P. S54-S74.
4. Скрябин, К.И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека / К.И. Скрябин. – Москва : МГУ, 1928. – 45 с.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВ ШТАММОВ ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ, ОТНОСЯЩИХСЯ К РАЗНЫМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПОДГРУППАМ ЛИНИИ ЕВРОПА-1, ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ГЕНОВАРИАНТОВ

Н.О. Ткаченко, А.А. Жирова, Г.П. Шкарлет, А.С. Волынкина

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Обоснование. Влияние генетических особенностей штаммов вируса ККГЛ на фенотипические и биологические свойства вируса недостаточно изучено. Различия в соотношении геновариантов вируса ККГЛ в РФ в образцах клинического и полевого материала, позволяют предположить различия по уровню вирулентности для человека разных геновариантов вируса ККГЛ.

Цель исследования*:* характеристика биологических свойств штаммов вируса ККГЛ, принадлежащих к разным геновариантам, циркулирующим в Российской Федерации в условиях *in vivo, in vitro*.

Методы. Секвенирование полноразмерной геномной последовательности вируса ККГЛ (методом NGS), филогенетический анализ, сравнительный геномный анализ (в ПО SnapGene, MEGA11), титрование по ТЦД50/мл на культуре клеток SW-13 с расчётом показателя тканевой цитопатической дозы, вызывающей гибель 50% клеток (ТЦД50) по методу Спирмена-Кербера, исследование кинетики нарастания жизнеспособного вируса, интрацеребральное заражение мышей-сосунков.

Результаты. В работе проведена оценка уровня летальности при инфицировании мышей-сосунков штаммами разных геновариантов линии Европа-1. Минимальные значения ЛД50 характерны для штаммов геновариантов VbVbVb 1,5 lg ТЦД50 и Va-Vb-Va – 0,95 lg ТЦД50. Для штаммов геновариантa VaVaVa ЛД50 составила 2-3,8 lg ТЦД50, геновариантa VdVdVd – 1,85 lg ТЦД50, реассортантного геновариантa Vb-Va-Va 2,2 lg ЦПД50, вариантa Vc-Vb-Va 4,5 lg ЦПД50, штамма турецкой подгруппы – 3,2 lg ЦПД50.

Пик репродукции вирусных частиц в культуре клеток SW-13 наблюдался на 3-6-е сутки, достигая 5,8-8,5 lg ТЦД50/мл. Наиболее интенсивно репликация и накопление вирусных частиц происходит при инфицировании штаммами геновариантов VbVbVb, VaVbVa, группы турецких штаммов. Менее интенсивно происходит накопление штаммов геновариантов VbVbVb, VbVaVa, VaVaVa.

Заключение. Полученные данные могут быть использованы при осуществлении эпидемиологического надзора за КГЛ, оценке эпидемиологической значимости отдельных штаммов вируса, разработке диагностических и профилактических препаратов.

***Ключевые слова**:* вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, биологические свойства вируса, оценка патогенности и вирулентности.

Крымская геморрагическая лихорадка — острая трансмиссивная природно-очаговая болезнь человека, для которой характерна спорадическая заболеваемость с возникновением через различные временные периоды эпидемических вспышек, сопровождающихся, как правило, высокой летальностью [1]. На юге Европейской части России сохраняется неблагополучная эпидемическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке. В 2013-2022 гг. в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах выявлено 895 случаев заболевания КГЛ, в т. ч. 34 летальных (3,7 %). Заболеваемость КГЛ не имеет тенденций к снижению, при этом наблюдается постепенное расширение границ природного очага КГЛ на юге России и вовлечение в эпидемический процесс новых районов [2-5].

В работах, проведенных ранее, получены данные о генетическом разнообразии вируса ККГЛ в России, выявлены изоляты вируса ККГЛ, относящиеся к трем генетическим линиям: Европа-1, Африка-3, Европа-3. В пределах генотипа «Европа-1» выявлены генетические варианты штаммов: Va, Vb, Vc, Vd, группа турецких и болгарских штаммов. Между штаммами разных подгрупп генетической линии Европа-1 возможен обмен сегментами генома, что приводит к возникновению реассортантных вариантов вируса ККГЛ [5-9].

Анализ клинико-эпидемиологической информации о больных КГЛ, инфицированных разными вариантами вируса ККГЛ, показал, что тяжелое течение болезни развивается чаще при инфицировании геновариантами Va-Vb-Va и Vb-Vb-Vb [10]. Влияние генетических особенностей штаммов на изменения фенотипических и биологических свойств вируса не изучено. Различия в соотношении геновариантов вируса ККГЛ в РФ в образцах клинического материала и полевого материала, позволяют предположить различия по уровню вирулентности для человека разных геновариантов вируса ККГЛ.

Целью работы явилось исследование биологических свойств штаммов вируса ККГЛ, принадлежащих к разным геновариантам, циркулирующим в Российской Федерации в условиях *in vivo, in vitro*.

Для изучения биологических свойств штаммов вируса ККГЛ была сформирована выборка из 20 штаммов линии Европа-1, относящихся к разным генетическим подгруппам: VaVaVa (n=8), VbVbVb (n=6), VdVdVd (n=1), VaVbVa (n=2), VbVaVa (n=1), VcVbVa (n=1), группы турецких

штаммов (n=1). Генотип штаммов определяли при проведении полногеномного секвенирование, и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей. Все исследуемые штаммы были закреплены в 4 пассажах на культуре клеток SW-13. Концентрацию жизнеспособных вирусных частиц в вируссодержащей жидкости штаммов определяли до начала исследования методом титрования по ТЦД50/мл на культуре клеток SW-13 в 96-луночных культуральных планшетах. Посев клеток осуществляли за 24 ч до начала титрования, с рассчетом $2x10^4$ клеток на лунку. Готовили десятикратные разведения вируса от 10^{-1} до 10^{-9} в питательной среде Игла МЕМ. Удаляли питательную среду из планшета с клетками и вносили по 100 мкл каждого разведения вируса на одну лунку с клеточным монослоем (на одно разведение вируса использовали 8 лунок). Планшеты переносили в инкубатор с температурой 37 °С и 5% CO_2. После 24ч контакта вируса с монослоем клеток удаляли избыток материала, в культуру вносили 100 мкл поддерживающей среды с 2% фетальной бычьей сывороткой с последующей инкубацией при 37 °С и 5% CO_2. Результат титрования учитывали на 7 сутки по выраженному цитопатическому действию и рассчитывали показатель тканевой цитопатической дозы, вызывающей гибель 50% клеток (ТЦД50), по методу Спирмена-Кербера [11] и выражали его в lg ТЦД50/мл.

Аликовоты вируссодержащей культуральной жидкости штаммов (1 мл) хранили при -80ºС. Для характеристики биологических свойств определяли скорость репликации вирусных частиц на перевиваемой культуре клеток SW-13, оценивали патогенность и вирулентность штаммов для новорожденных белых мышей.

Для определения 50% летальной дозы (ЛД50/мл) семью новорожденных белых мышей заражали интрацеребрально в дозе 0,02 мл десятикратными разведениями вируссодержащей культуральной жидкости с известной концентрацией жизнеспособных вирусных частиц, выраженной в lg ТЦД50/мл (10^2, 10^3, 10^4, 10^5 ТЦД50/мл). Наблюдение за инфицированными животными осуществляли в течение 14 суток, при появлении клинических признаков заболевания (вялость, малоподвижность, нарушение координации движений, судороги) и гибели животных проводили вскрытие, отбирали головной мозг. Значение ЛД50/мл вычисляли при построении графика, отражающего долю павших животных в семье в зависимости от концентрации жизнеспособных вирусных частиц в разведении.

Скорость репродукции конкретного штамма вируса является важной характеристикой его биологических свойств. Проведен эксперимент по изучению динамики накопления штаммов вируса ККГЛ, относящихся к генотипу Европа-1, в культуральной жидкости, с учетом известной множественности инфицирования.

Монослойную перевиваемую клеточную культуру аденокарциномы надпочечника человека (SW-13) в культуральных флаконах с площадью поверхности 25 $см^2$ инфицировали штаммами вируса ККГЛ в дозе 0,0001 MOI (1 вирусная частица на 10000 эукариотических

клеток). Цитопатический эффект при инфицировании всеми исследуемыми штаммами развивался на 4-5 сутки после инфицирования.

Для изучения динамики репродукции штаммов вируса в течение 10 суток ежедневно отбирали образцы культуральной жидкости из инфицированных флаконов, в отобранных пробах определяли концентрацию жизнеспособных вирусных частиц методом титрования на культуре клеток SW-13, концентрацию выражали в ТЦД50/мл.

Рассчитано среднее, максимальное и минимальное значение ТЦД50/мл, для штаммов геновариантов линии Европа-1: VaVaVa (n=8), VbVbVb (n=6), VdVdVd (n=1), VaVbVa (n=2), VbVaVa (n=1), VcVbVa (n=1), группы турецких штаммов (n=1), выявленное в образцах культуральной жидкости, отобранных на 1-10 сутки после инфицирования монослоя клеток.

Пик репродукции вирусных частиц вируса ККГЛ в монослое клеток SW-13 наблюдался на 3-6-е сутки, достигая 5,8-8,5 lg ТЦД50/мл. Наиболее интенсивно репликация и накопление вирусных частиц происходит при инфицировании штаммами геновариантов VbVbVb (пиковое среднее значение 7,92 lg на 3 сутки), VaVbVa (пиковое среднее значение 8,5 lg ТЦД50/мл на 3 сутки), группы турецких штаммов (концентрация вируса на 1-4 сутки после инфицирования 4,1, 5,8, 6,7 lg ТЦД50/мл). Менее интенсивно происходит накопление штаммов геновариантов VbVbVb, VbVaVa, VaVaVa.

С целью оценки вирулентности штаммов вируса ККГЛ проведено инфицирование новорожденных белых мышей вируссодержащей культуральной жидкостью штаммов, принадлежащих к разным геновариантам линии Европа-1 (количество жизнеспособных вирусных частиц составляло от 2 до 4 lg). Показано, что все исследуемые штаммы вызывают заболевание и падеж мышей сосунков. Манифестация заболевания происходит преимущественно на 7 сутки, однако замечены различия в сроках развития болезни при инфицировании штаммами разных генетических подгрупп. При инфицировании штаммами геновариантa VbVbVb и группы турецких штаммов клинические симптомы наблюдаются с 4 суток, летальный эффект – с 5 по 10 сутки. При инфицировании штаммами геновариантов VaVaVa, VdVdVd и реасортантных вариантов Vb-Va-Va и Vc-Vb-Va заболевание развивается позже, летальный эффект регистрируется до 17 суток (рисунок 1).

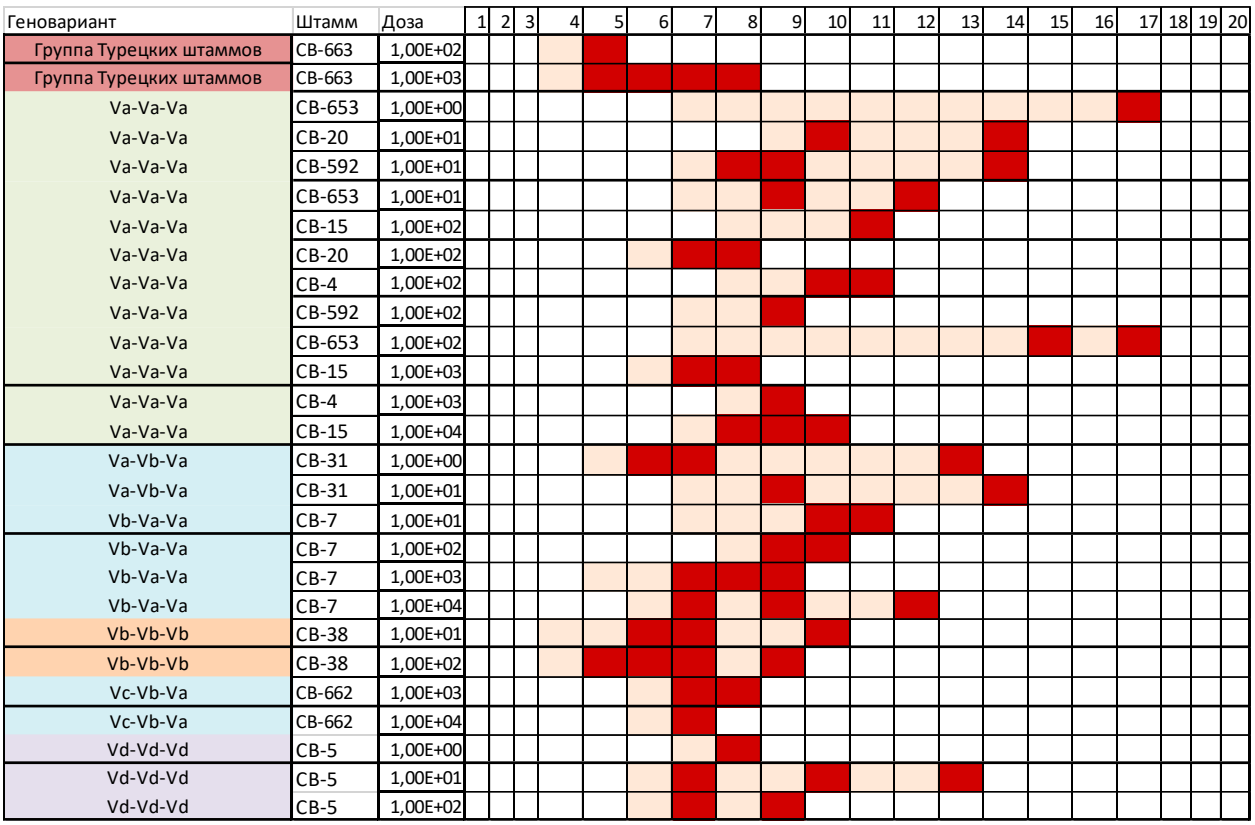


Рисунок 1. Сроки заболевания/гибели новорожденных белых мышей при инфицировании штаммами вируса ККГЛ, принадлежащими к разным генетическим вариантам

Проведена оценка уровня летальности при инфицировании новорожденных белых мышей штаммами разных геновариантов генетической линии Европа-1, рассчитаны значения показателя ЛД50 штаммов вируса ККГЛ разных геновариантов генетической линии Европа-1 для новорожденных белых мышей.

Минимальные значения ЛД50 характерны для штаммов геновариантов VbVbVb 1,5 lg ТЦД50 и Va-Vb-Va – 0,95 lg ТЦД50. Для штаммов геновариантa VaVaVa ЛД50 составила 2-3,8 lg ТЦД50, геновариантa VdVdVd – 1,85 lg ТЦД50, реассортантного геновариантa Vb-Va-Va 2,2 lg ЦПД50, варианта Vc-Vb-Va 4,5 lg ЦПД50, штамма турецкой подгруппы – 3,2 lg ЦПД50.

Отмечены особенности клинических проявлений при инфицировании новорожденных белых мышей отдельными штаммами, при инфицировании штаммом СВ-592(VaVaVa), у мышей наблюдалось частичное облысение, которое разрешилось восстановлением волосяного покрова на 15-18 сутки от начала клинических проявлений. При инфицировании штаммом СВ-4(VaVaVa) наблюдалась повышенная нервная возбудимость, в то время как у остальных в клинике преобладала малоподвижность и вялость. В связи с этим необходимо продолжение исследований, с увеличением выборки штаммов и анализом аминокислотных замен, полученные данные позволят оценить эпидемический потенциал штаммов вируса ККГЛ относящихся к разным генетическим подгруппам, выявить мутации в геноме, связанные с изменением их

вирулентностии, в дальнейшем, при изменении генетической структуры популяции вируса ККГЛ прогнозировать изменения эпидемической ситуации.

В результате изучения биологических характеристик штаммов выявлены различия в динамике размножения вирусных частиц на культуре клеток SW-13 и уровне вирулентности для новорожденных белых мышей штаммов принадлежащих к разным геновариантам генотипа Европа-1.

Для подтверждения полученных данных о различиях биологических свойств штаммов, коррелирующих с принадлежностью к отдельным геновариантам, необходимо продолжение изучения характеристик штаммов для накопления большего количества данных и их статистического анализа. Перспективным также является анализ влияния отдельных аминокислотных замен с структурных и неструктурных белках вируса на фенотипические и вирулентные свойства штаммов.

Полученные данные могут быть использованы при осуществлении эпидемиологического надзора за КГЛ, оценке эпидемиологической значимости отдельных штаммов вируса, разработке диагностических и профилактических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнова С. Е. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика). М., 2007. 304 с

2. Анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. / А.С. Волынкина, Н.Д. Пакскина, Е.В. Яцменко, Е.С. Котенев, Я.В. Леванцова, О.В. Малецкая, Л.И. Шапошникова, Ю.М. Тохов, А.Н. Куличенко // Проблемы особо опасных инфекций. –2014. –№ 2. – С.40–43.

3. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Крымская геморрагическая лихорадка в Российской федерации в 2014 г., прогноз эпидемиологической обстановки на 2015 г. // Проблемы особо опасных инфекций. –2015. -№ 1. -С. 42-45.

4. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2016 г., прогноз на 2017 г. / А.С. Волынкина, Е.С. Котенев, Я.В. Лисицкая, О.В. Малецкая, Л.И. Шапошникова, А.Н. Куличенко // Проблемы особо опасных инфекций. –2017. – № 1. - С. 24-28.

5. Крымская геморрагическая лихорадка / Г.Г. Онищенко, А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Н.Ф. Василенко, Е.А. Манин, А.С. Волынкина, Д.А. Прислегина, О.В. Семенко. - Воронеж: Фаворит, 2018 – 288 с.

6. Волынкина А.С. Генетический мониторинг Крымской-Конго геморрагической лихорадки на юге Европейской части Росси в 2011 году / Волынкина А.С., Куличенко А.Н. // Проблемы особо опасных инфекций. -2012. - Вып. 4(114). - С. 80-85.

7. Волынкина А.С. Современные методы молекулярно-генетического анализа крымской геморрагической лихорадки в системе эпидемиологического надзора / Волынкина А.С., Куличенко А.Н. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2016. - №1. –С. 53-60.

8. Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулировавший в Ставропольском крае в 2011 г. / Л. Н. Яшина, Б. С. Малышев, Н. А. Нетесова, А. С. Волынкина, Н. Ф. Василенко // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2014. – № 4. – С. 25–29.

9. Новый генетический вариант вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выявленный в Крыму / А.Н. Куличенко, А.С. Волынкина, Е.С. Котенев, С.В. Писаренко, Л.И. Шапошникова, Я.В. Лисицкая, Н.Ф. Василенко, О.И. Цыганкова, Ю.М. Евченко, Ю.М. Тохов, В.Н. Савельев, С.Н. Тихонов, Н.А. Пеньковская // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. – Т. 34, № 2. – С. 76-80.

10. Volynkina A, Lisitskaya Y, Kolosov A, Shaposhnikova L, Pisarenko S, et al. (2022) Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Russia. PLOS ONE 17(5): e0266177. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266177

11. Ramakrishnan MA. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. World J Virol. 2016 May 12;5(2):85-6. doi: 10.5501/wjv.v5.i2.85. PMID: 27175354; PMCID: PMC4861875

КОМПЛЕКСНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* В СИСТЕМЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА

Ж.Ю. Хунхеева, Л.В. Миронова, С.В. Эрдынеев, А.В. Фортунатова

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Галофильные вибрионы широко распространены по всему земному шару и являются естественными обитателями морских водоемов. Одним из представителей этой группы вибрионов является парагемолитический вибрион, возбудитель ОКИ, протекающих по типу пищевых токсикоинфекций и ассоциированных с употреблением в пищу сырых или недостаточно термически обработанных морепродуктов. В мировой структуре заболеваемости, особенно в странах Юго-Восточной Азии, доминирующее значение в этиологии кишечных инфекций галофильной этиологии принадлежит так называемым пандемическим вариантам парагемолитического вибриона, среди которых наиболее распространенным является *V. parahaemolyticus* O3:K6 серогруппы [1, 2, 3].

В Приморском крае эпидемиологическая ситуация по пищевым токсикоинфекциям (ПТИ), вызванным парагемолитическим вибрионом, согласуется с глобальной тенденцией распространения патогена. Так, с 1976 г. по 1996 г. в г. Владивостоке регистрировались единичные случаи ПТИ галофильной этиологии на фоне циркуляции вибриона в поверхностных водоемах [4]. В 1997 г. в г. Владивостоке в июле-августе была зарегистрирована вспышка кишечной инфекции продолжительностью около месяца с вовлечением в эпидемический процесс 63 человек с пищевым фактором передачи инфекции [4, 5].

Персистенция парагемолитического вибриона преимущественно в соленых водоемах, обсеменение ракообразных и моллюсков, молекулярно-генетические особенности вибриона, социальные факторы определяют разнообразие клинико-эпидемиологических особенностей ПТИ, обусловленных *V. parahaemolyticus*. Все это определяет необходимость изучения популяции *V. parahaemolyticus* на генетическом уровне для оценки эффективности применения различных молекулярных методов типирования в микробиологическом мониторинге и при проведении расследований спорадических и групповых случаев заболеваний, вызванных парагемолитическим вибрионом, в рамках совершенствования эпидемиологического надзора.

Цель исследования – выявление молекулярно-генетических особенностей *V. parahaemolyticus*, выделяемых от больных с ПТИ, из поверхностных водоемов в Приморском крае и оценка эффективности использования различных методов типирования.

Материал и методы

Исследуемые штаммы. В комплексное исследование взято 80 штаммов *V. parahaemolyticus*, выделенные в Приморском крае (гг. Владивосток, Находка, Хасанский

район). Из этой выборки 17 штаммов изолированы от больных ПТИ при спорадических и групповых случаях заболевания в Хасанском районе (n=14) и в г. Владивосток (n=3 с субкультурой одного из штаммов). Из поверхностных водоемов было выделено 63 штамма *V. parahaemolyticus,* взятые в настоящее исследование.

Выделение ДНК микроорганизма. Выделение бактериальной ДНК для ПЦР анализа и MLVA-типирования *V. parahaemolyticus* осуществлялось с помощью коммерческого набора «Рибо-Преп» согласно инструкции производителя. Для полногеномного секвенирования выделение ДНК осуществлялось набором «Dneasy Blood & Tissue Kit» (Qiagen).

Полимеразная цепная реакция. Амплификация гена основного фактора патогенности *V. parahaemolyticus* – прямого термостабильного гемолизина (*tdh*), осуществлялась по программе: стартовая денатурация 94 °С – 3 мин; денатурация 94 °С – 20 сек, отжиг праймеров 55 °С – 20 сек, элонгация 72 °С – 20 сек; заключительная элонгация 72 °С – 3 мин. Результат амплификации учитывали по наличию фрагмента размером 251 п.н.

MLVA-типирование штаммов парагемолитического вибриона проводилось по семи локусам вариабельных тандемных повторов Vptr1, Vp02-07, Vptr3, Vptr4, Vptr5, Vptr6, Vptr8, описанные B. Kimura с соавт. [7] и E. Harth-Chu с соавт. [8]. При проведении амплификации локусов вариабельных тандемных повторов использованы универсальный набор для амплификации ДНК производства ЗАО «Синтол» и специфичные к каждому из анализируемых локусов праймеры, меченные флуоресцентными красителями.

Размер полученных ампликонов определялся методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония). Сравнение фрагмента, содержащего локусы вариабельных тандемных повторов, осуществлялось с использованием маркера молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ Size Standard в программном приложении GeneMapper 4.0.

Полногеномное секвенирование и *in silico* MLST. При проведении полногеномного секвенирования использованы наборы реагентов для платформы MiSeq (Illumina) – MiSeq Reagent Kit v3 и DNA Prep Kit, для MinION (Oxford Nanopore Technologies) – проточная ячейка Flow Cell (R9.4.1) и Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109). Гибридные сборки полученных данных секвенирования с платформ выполнялись с помощью программы SPAdes v.3.11.1.

Результаты полногеномного секвенирования парагемолитического вибриона использованы как для поиска в исследуемых геномах специфичных для пандемичных вариантов вибриона последовательностей *toxRS* и *orf8*, отдельных детерминант T3SS1 (*vopQ*, *vopS*, *vopR*, *VPA0450*) и T3SS2 (*vopA*, *vopC*, *vopT*, *vopL*) систем секреции, «открытых рамок считывания» (ORFs) семи «островов патогенности» *V. parahaemolyticus*, так и для поиска последовательностей

генов «домашнего хозяйства» парагемолитического вибриона для проведения мультилокусного сиквенс-типирования (MLST) *in silico*.

Поиск нуклеотидных последовательностей «открытых рамок считывания» в исследуемых изолятах осуществлялся в отношении только кодирующих фрагментов, определенных у референсного изолята *V. parahaemolyticus* RIMD 2210633 из базы GenBank.

Мультилокусное сиквенс-типирование *in silico* проводилось посредством поиска и анализа структуры в геномах исследуемых изолятов *V. parahaemolyticus* генов «домашнего хозяйства» *recA*, *dnaE*, *gyrB*, *dtdS*, *pntA*, *pyrC* и *tnaA*, предложенных N. Gonzalez-Escalona с соавт. [9] в качестве мишеней и представленных в международной базе PubMLST.

Идентификация аллелей генов «домашнего хозяйства» и определение сиквенс-типа изолятов проводились на основании информации, представленной на сетевом ресурсе PubMLST.org.

Результаты

Согласно предоставленным данным Управления Роспотребнадзора по Приморскому краю ОКИ галофильной этиологии регистрируются в регионе практически ежегодно. Ранее нами установлено, что за период с 1997-2021 гг. в субъекте зарегистрировано 409 случаев заболевания, вызванных галофильными вибрионами, из которых в 92,6 % случаях кишечная инфекция была обусловлена парагемолитическим вибрионом. Эпидемические проявления ОКИ характеризовались как единичными, так и групповыми случаями заболевания. Групповые случаи были зарегистрированы в краевом центре в 1997 г. – 63 случая, 2001 г. – 31 случай, 2002 г. – 24 случая, 2005 г. – 37 случаев, 2007 г. – 39 случаев, 2009 г. – 43 случая, 2012 г. – 54 случая,2017 гг. – 27 случаев [6].

Необходимо отметить, что парагемолитический вибрион обнаруживается и в поверхностных водоемах Приморского края. За период с 2011 по 2021 гг. всего выделено 923 штамма *V. parahaemolyticus*. При этом все водоемы, из проб которых выделено 97 % всех вибрионов, относятся к водоемам, используемым для рекреационного водопользования.

По результатам молекулярно-генетического скрининга в ПЦР 80 штаммов парагемолитического вибриона, выделенных из клинического материала и поверхностных водоемов Приморского края, на наличие гена основного фактора патогенности – прямого термостабильного гемолизина *tdh* показано его присутствие у 13 клинических штаммов *V. parahaemolyticus* (включая субкультуру одного из штаммов), изолированных при групповых случаях ПТИ в 2012 г. (n=10) и 2017 г. (n=3). При спорадических случаях клинические изоляты характеризуются отсутствием данного гена и отнесены к непатогенным, также, как и водные изоляты. При этом результаты ПЦР тестирования по определению патогенности в ПЦР

коррелируют с данными определения патогенных свойств на среде Вагацума (r_{xy}=1, при p >99,9 %).

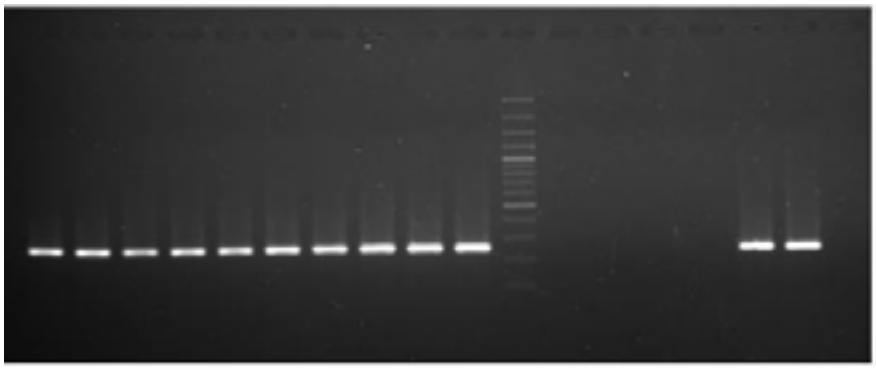


Рисунок 1. Электорофореграмма продуктов амплификации в ПЦР (детекция гена *tdh* у штаммов *V. parahaemolyticus*)

По результатам выборочного анализа нуклеотидной последовательности *toxRS* 24 штаммов парагемолитического вибриона подтверждена принадлежность к пандемичному клону патогенных изолятов *V. parahaemolyticus* с генотипом tdh^+, имеющих характерные нуклеотидные замены по семи позициям генов *toxR* и *toxS*: аденин в 576, 900, 1244 позициях и тимин – в 1002, 1196, 1463. Выделенные при спорадических случаях заболевания и из поверхностных водоемов края tdh^- штаммы парагемолитического вибриона характеризуются *toxRS/old* последовательностью с гуанином в 576, 900, 1244 позициях, цитозином – в 1002, 1196 и аденином – в 1214, 1463. Кроме этого у патогенных штаммов выявлена уникальная рамка считывания *orf8* в составе 237 фага, также характерная для пандемичных клонов.

Кроме этого, в геномах данных 24 штаммов *V. parahaemolyticus* осуществлен поиск детерминант системы секреции 3 типа, играющей роль в инфекционном процессе. Детерминанты *vopQ*, *vopS*, *vopR*, *VPA0450* типа секреции T3SS1 присутствуют у всех исследованных вибрионов, независимо от патогенных свойств. Однако, присутствие других детерминант патогенности, таких как *vopA*, *vopC*, *vopT*, *vopL* системы секреции T3SS2, было выявлено преимущественно у патогенных изолятов *V. parahaemolyticus*.

Также установлено наличие у выделенных в 2012 г. патогенных изолятов парагемолитического вибриона открытых рамок считывания, входящих в состав семи островов патогенности VPaI-1 – VpaI-7. Изолированные в 2017 г. патогенные изоляты характеризуются наличием шести из семи анализируемых «островов патогенности». Непатогенные клинические и водные изоляты несут единичные интактные острова патогенности, а в большей части островов выявлены протяженные делеции. Количество отсутствующих открытых рамок считывания среди непатогенных изолятов варьирует от двух до семнадцати.

Для анализа клональной структуры при оперативном и ретроспективном исследовании одним из перспективных методов является метод мультилокусного анализа вариабельных тандемных повторов (MLVA), основанный на определении количества повторов по определенным локусам ДНК.

При MLVA-типировании выборки из 80 штаммов *V. parahaemolyticus* установлена высокая генетическая гетерогенность изолятов из объектов окружающей среды и относительная консервативность клинических штаммов по анализируемым локусам. По результатам кластерного анализа генотипы *V. parahaemolyticus* дифференцировались на 65 уникальных и пять кластерных. Выявлено, что клинические tdh^+ штаммы парагемолитического вибриона, выделенные в 2012 г., вошли в отдельный кластер, как и патогенные изоляты, изолированные от больных в 2017 г. Большая часть патогенных штаммов 2012 г. (семь из десяти) характеризуется идентичным MLVA-профилем, для трех штаммов установлены одно- и двухлокусные варианты, незначительно отличающиеся от доминирующего генотипа (рисунок 2).

В отношении вибрионов, изолируемых из объектов окружающей среды, показана генетическая гетерогенность популяции с дифференциацией на 60 уникальных генотипов вне зависимости от территории и времени изоляции микроорганизма (рисунок 2), что определяет низкую эффективность метода в оперативном эпидемиологическом анализе при выделении *V. parahaemolyticus* из объектов окружающей среды. Приуроченность выявленных MLVA-генотипов клинических штаммов *V. parahaemolyticus* к определенному эпидемическому осложнению указывает на перспективность использования метода для выяснения источника инфекции и путей распространения в рамках эпидемиологического расследования. В целом, MLVA обладает достаточно высокой дискриминирующей способностью в отношении вибриона: так для данной выборки индекс Хантера-Гастона, отображающий дискриминирующую способность, составил 0,988.

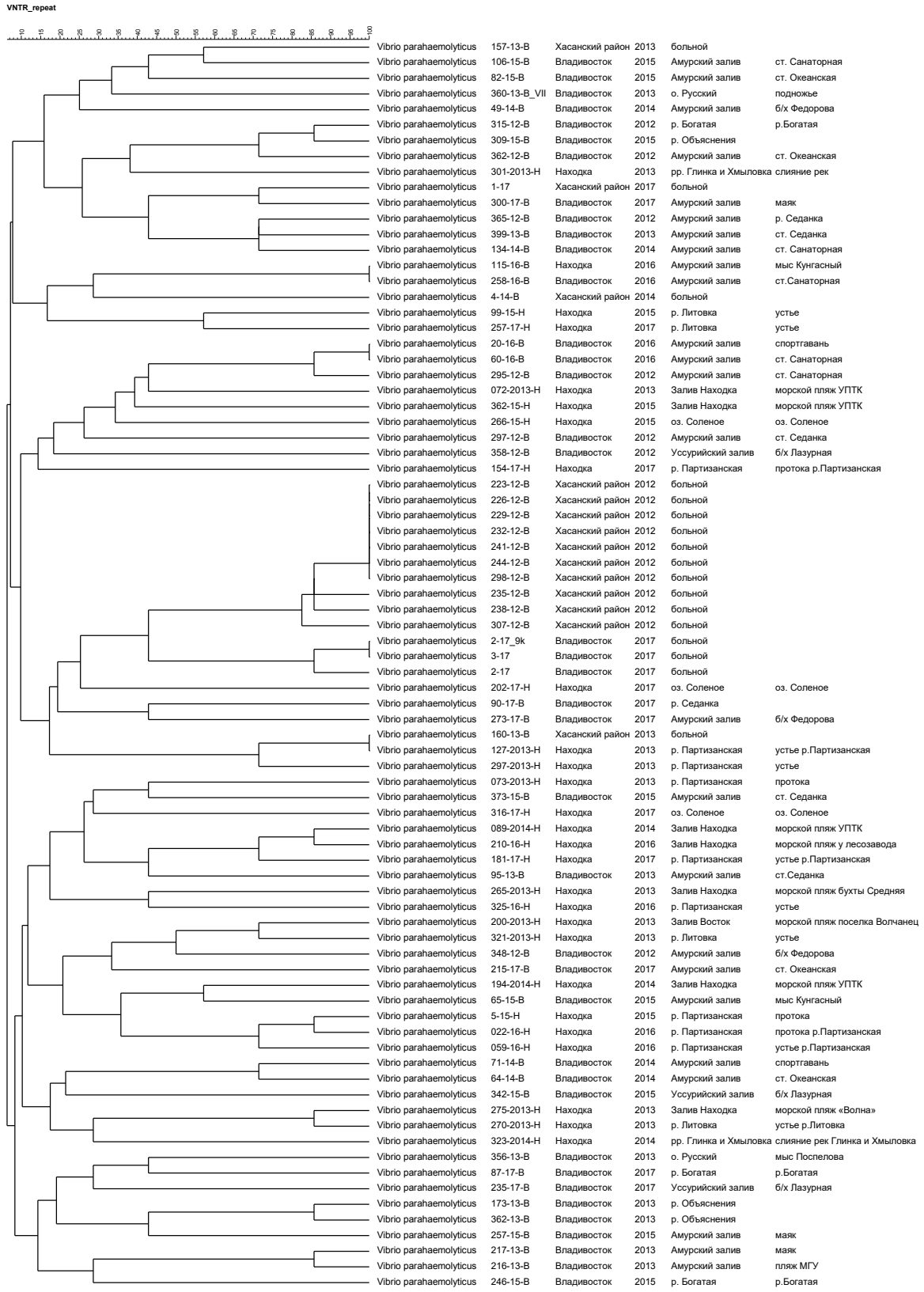


Рисунок 2. Дендрограмма, построенная по результатам MLVA-типирования (с использованием алгоритма UPGMA) штаммов *V. parahaemolyticus*, выделенных в Приморском крае

С целью выявления особенностей структуры генов «домашнего хозяйства» и установления взаимосвязей на глобальном уровне нами проведен *in silico* MLST анализ 24 выделенных изолятов *V. parahaemolyticus*.

Проведено определение аллельного варианта и сиквенс-типа на портале PubMLST. Из 24 анализируемых штаммов у 19 определены их аллельные профили, из которых в 15 случаях определены сиквенс-типы, информация о которых содержится в базе PubMLST (таблица 1).

Таблица 1. Идентифицированные аллельные профили и сиквенс-типы *V.parahaemolyticus*

Штамм		**Тип аллели генов «домашнего хозяйства»**							**CT**	**Клональный комплекс**
		recA	***dnaE***	***pyrC***	***dtdS***	***gyrB***	***tnaE***	***pntA***		
Клинические	226-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	229-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	232-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	235-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	241-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	244-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	307-12-B	19	3	4	4	225	22	29	431	3
	157-13-B	77	277	172	19	392	12	1	2345*	-
	160-13-B	191	73	202	222	260	26	28	533	-
	4-14-B	19	47	43	287	52	37	26	761*	-
	1-17	124	40	62	125	120	24	127	нд**	-
	2-17_с/к	19	3	4	4	4	22	29	3	3
	3-17	19	3	4	4	4	22	29	3	3
	362-12-B	220	4	9	38	13	23	18	1081	-
Водные	360-13-B	21	28	23	119	17	24	20	нд**	-
	356-13-B	345	348	37	330	364	132	184	1674	-
	399-13-B	25	19	274	302	351	197	157	834	-
	127-13-H	191	73	202	222	260	26	28	533	-
	134-14-B	25	19	274	302	351	197	157	834	-

Примечание: *- представлен сходный сиквен-тип, **- не идентифицирован

У патогенных изолятов парагемолитического вибриона 2012, 2017 гг. изоляции идентифицированы два сиквенс-типа ST431 и ST3, лежащие в основе 3 клонального комплекса, который является наиболее распространенным среди пандемичных клонов *V. parahaemolyticus* в мире. Идентифицированные у выделенных непатогенных и водных изолятов сиквенс-типы 834, 533, 1081, 1674 распространены в водоемах Китая.

При анализе структуры локусов жизнеобеспечения установлено, что дифференциация патогенных вариантов парагемолитического вибриона, изолированных в 2012, 2017 гг., установлена по структуре гена*gyrB*, в то время как по другим генам «домашнего хозяйства» штаммы идентичны. Выделенные при спорадических случаях штаммы характеризуются

вариабельной структурой генов жизнеобеспечения, по сравнению с патогенными клиническими изолятами.

Таким образом, показано, что групповые случаи вызванных парагемолитическим вибрионом ПТИ, как правило, ассоциированы с патогенными вариантами, несущими детерминанты основных и дополнительных факторов патогенности, в том числе в составе островов патогенности. Непатогенные изоляты *V. parahaemolyticus* вызывают преимущественно единичные случаи заболевания.

При MLVA-типировании установлено, что штаммы, выделенные при групповых ПТИ, имеют идентичные или сходные MLVA-профили, специфичные для отдельных эпидемических осложнений, что свидетельствует о перспективности использования метода при эпидрасследовании групповых случаев ОКИ, вызванных парагемолитическим вибрионом.

Изолированные из поверхностных водоемов и при спорадических случаях ПТИ непатогенные *V. parahaemolyticus* демонстрируют гетерогенность по структуре локусов вариабельных тандемных повторов.

По структуре генов «домашнего хозяйства» патогенные изоляты *V. parahaemolyticus* принадлежат к двум сиквенс-типам ST431 и ST3, входящим в состав единого клонального комплекса CC3, что свидетельствует о клональном происхождении патогенных изолятов парагемолитического вибриона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Laohaprertthisan V., Chowdhury A., Kongmuang U., Kalnauwakul S., Ishibashi M., Matsumoto C., Nishibuchi M. Prevalence and serodiversity of the pandemic clone among the clinical strains Vibrio parahaemolyticus isolated in southern Thailand // Epidemiol. Infect. – 2003. – Vol. 130 – N 3 – P. 395-406.
2. Nair G.B., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Dutta B., Takeda Y., Sack D.A. Global dissemination of Vibrio parahaemolyticus serotype O3:K6 and its serovariants // Clin. Microbiol. Rev. – 2007. – Vol. 20 – N 1 – P. 39-48.
3. Velazquez-Roman J., Leon-Sicairos N., Hernandez-Diaz L.de J., Canizalez-Roman A. Pandemic Vibrio parahaemolyticus O3: K6 on the American continent // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2014. – Vol. 3 – P. 1-14.
4. Тарасенко Т.Т., Грушина Г.А., Воронок В.М., Хоменко Т.В. Пищевые токсикоинфекции, вызываемые галофильными вибрионами, в г. Владивосток: эпидемиологическая характеристика // Микробиология, эпидемиология и иммунология. – 1999. – N 2 (1) – С. 36-39.

5. Тарасенко Т.Т., Косенок Е.В., Кривоногова В.А., Шевердина Ф.Н. Заболеваемость прочими кишечными инфекциями в Приморском крае // Здоровье. Медицинская экология. Наука – 2016. – Т. 3 – N 66 – С.127–134.

6. Хунхеева Ж.Ю., Миронова Л.В., Фортунатова А.В., Алленов А.В., Борзов В.П., Хоменко Т.В., Солодкая Н.С., Аббасова Е.И., Тарасенко Т.Т. Эпидемиологические особенности острых кишечных инфекций, обусловленных галофильными вибрионами в Приморском крае // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2019. – № 24 (3). – С. 100–107.

7. Kimura B., Sekine Y., Takahashi H., Tanaka Y., Obata H., Kai A., Morozumi S., Fujii T. Multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis distinguishes Vibrio parahaemolyticus pandemic O3:K6 strains // J. Microbiol. Methods – 2008. – Vol. 72 – N 3 – P. 313-320.

8. Harth-Chu E., Espejo R.T., Christen R., Guzman C.A., Hofle M.G. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for clonal identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by using capillary electrophoresis // Appl. Environ. Microbiol. – 2009. – Vol. 75 – N 12 – P. 4079-4088.

9. Gonzalez-Escalona N., Martinez-Urtaza J., Romero J., Espejo R.T., Jaykus L.-A., DePaola A. Determination of molecular phylogenetics of *Vibrio parahaemolyticus* strains by multilocus sequence typing // J. Bacteriol. – 2008. – Vol. 190 – N 8 – P. 2831-2840.